

Montpellier SupAgro

THÈSE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ MONTPELLIER II

Discipline : Biochimie, Chimie et Technologie des Aliments

École Doctorale : Sciences des Procédés – Sciences des Aliments

Présentée et soutenue publiquement

Par

Thierry GOLI

Le 21 mai 2012

Titre :

**COMPORTEMENT DES MATRICES PROTÉIQUES ACIDIFIÉES
PAR IMMERSION EN SOLUTION CONCENTRÉE**

Jury :

| | | |
|-----------------|---|--------------------|
| M. BOHUON P. | Maître de Conférences Montpellier SupAgro | Examineur |
| M. BROYART B. | Professeur AgroParisTech | Rapporteur |
| M. COLLIGNAN A. | Professeur Montpellier SupAgro | Directeur de thèse |
| M. CUQ B. | Professeur Montpellier SupAgro | Examineur |
| M. DAUDIN J.D. | Directeur de recherche INRA Theix | Examineur |
| M. GATELLIER P. | Ingénieur de recherche (HDR) INRA Theix | Rapporteur |

J'adresse mes sincères remerciements à mes encadrants, Philippe Bohuon et Antoine Collignan, collègues et amis de longue date, qui m'ont guidé et beaucoup appris, notamment à tirer mes idées au clair et à les mettre noir sur blanc...

Les autres membres de mon comité de thèse m'ont également beaucoup apporté en mettant le doigt sur certaines faiblesses de l'approche proposée tout nous aiguillant vers la direction appropriée. Ainsi je remercie très chaleureusement Jean-Dominique Daudin et Sylvie Marchesseau pour leur disponibilité et leur aide.

Je dois également une fière chandelle à Julien Ricci, qui m'a été d'une aide salutaire pour toute la partie expérimentale.

J'exprime toute ma reconnaissance à Dominique Pallet et Max Reynes, qui ont été compréhensifs et patients au long de ces 4 années, en m'autorisant de nombreuses esquives à leurs sollicitations ...

Toute mon amitié va aux collègues du B15, partageant tour à tour pauses « chouquettes » ou Michoko, footings entre Méric et Baillarguet, trempettes à Antigone, rires et larmes en mezzanine, vins chauds quand le climat se faisait rude, agapes autour de la dernière recette microndable. Confit ou tajine... ?

Mes filles Ornella et Andréa, ma petite fille Raja ont également joué un rôle crucial sans le savoir en m'évitant de m'apitoyer sur mon sort, je les en remercie tendrement.

Un grand merci à Michu, mon ami et confident de toujours.

Enfin je dédie cette thèse à Véro, qui m'a porté et supporté ces 3 dernières années à un moment de ma vie où je pensais avoir fait le tour de nombreuses questions...

Ce travail a fait l'objet de trois publications et d'un poster.

Goli, T., Bohuon, P., Ricci, J., Trystram, G., & Collignan, A. (2011). Mass transfer dynamics during the acidic marination of turkey meat. *Journal of Food Engineering*, 104(1), 161-168.

Goli, T., Bohuon, P., Ricci, J., & Collignan, A. (2012). Evolution of pH during immersion of meat protein matrices in acidic marinades. *Meat Science*, 90(3), 618-623.

Goli, T., Bohuon, P., Ricci, J., & Collignan, A. (2012). Influence of sodium chloride and pH during acidic marination on water retention and mechanical properties of turkey breast meat. *Meat Science (Soumis)*.

Goli, T., Bohuon, P., Ricci, J., Trystram, G., & Collignan, A. (2011). Swelling and shrinkage regimes during the acidic marination of meat in presence of salt. *Food Process Engineering in a Changing World; Proceedings of the 11th International Congress on Engineering and Food*, Athens (Greece), 1349-1350.

TABLE DES MATIÈRES

| | |
|--|----|
| LISTE DES FIGURES..... | 1 |
| LISTE DES TABLEAUX..... | 4 |
| NOMENCLATURE..... | 6 |
| INTRODUCTION GÉNÉRALE..... | 7 |
| PARTIE 1 : ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE..... | 9 |
| 1.1 GÉNÉRALITÉS SUR LA VIANDE..... | 9 |
| 1.1.1 <i>Composition et structure</i> | 9 |
| 1.1.1.1. Composition..... | 9 |
| 1.1.1.2. Structure du muscle..... | 9 |
| 1.1.1.3. Description et propriétés des protéines musculaires..... | 11 |
| 1.1.1.3.1. Les protéines sarcoplasmiques..... | 11 |
| 1.1.1.3.2. Les protéines myofibrillaires..... | 12 |
| 1.1.1.3.3. Les protéines extracellulaires : le tissu conjonctif..... | 14 |
| 1.1.2. <i>Les propriétés de la viande et leurs déterminants</i> | 15 |
| 1.1.2.1. Déterminants..... | 16 |
| 1.1.2.1.1. Effet de la maturation sur les protéines musculaires..... | 16 |
| 1.1.2.1.2. Le pH..... | 17 |
| 1.1.2.1.3. Les éléments structurels..... | 19 |
| 1.1.2.2. Les propriétés fonctionnelles..... | 21 |
| 1.1.2.2.1. Capacité de rétention de liquide..... | 21 |
| 1.1.2.2.2. Texture..... | 23 |
| 1.2. LE MARINAGE..... | 26 |
| 1.2.1. <i>Définition, produits, fonctions</i> | 26 |
| 1.2.2. <i>Transferts de matières</i> | 28 |
| 1.2.3. <i>Mise en contact</i> | 30 |
| 1.2.4. <i>Effet du marinage sur la matrice</i> | 30 |
| 1.2.4.1. Effet de l'acide..... | 31 |
| 1.2.4.1.1. Effets sur la structure, la physicochimie..... | 31 |
| 1.2.4.1.2. Répercussions sur les propriétés fonctionnelles..... | 34 |
| 1.2.4.2. Effet du sel..... | 35 |
| 1.2.4.2.1. Effet du sel sur la structure, la physicochimie de la matrice..... | 35 |
| 1.2.4.2.2. Effet du sel sur les propriétés fonctionnelles..... | 36 |
| 1.2.4.3. Effets du traitement combiné sel-acide..... | 37 |
| 1.2.4.3.1. Effets sur la structure et la physicochimie..... | 37 |
| 1.2.4.3.2. Effets sur les propriétés fonctionnelles..... | 38 |
| PARTIE 2 : MATÉRIELS ET MÉTHODES..... | 41 |
| 2.1. PRODUITS CARNES ET MARINADES..... | 41 |
| 2.2. DISPOSITIFS EXPERIMENTAUX..... | 41 |
| 2.2.1. <i>Expérimentations en milieu « fermé »</i> | 41 |
| 2.2.2. <i>Expérimentations en milieu « ouvert »</i> | 42 |
| 2.3. CARACTERISATIONS..... | 43 |
| 2.3.1. <i>Analyses chimiques</i> | 43 |
| 2.3.2. <i>Mesure des propriétés fonctionnelles</i> | 44 |
| 2.4. CALCULS ET EXPRESSION DES RESULTATS..... | 46 |
| 2.4.1. <i>Détermination du pouvoir tampon en fonction du pH</i> | 46 |
| 2.4.2. <i>Détermination de la quantité de protons liés [H_b]</i> | 47 |
| 2.4.3. <i>Calcul du pH en milieu fermé</i> | 47 |
| 2.4.4. <i>Calculs de pH en milieu ouvert</i> | 48 |
| 2.4.5. <i>Évaluation des pertes de pouvoir tampon durant le marinage</i> | 48 |
| 2.4.6. <i>Transferts de matière</i> | 49 |
| 2.5. METHODES STATISTIQUES..... | 50 |

| | |
|--|------------|
| PARTIE 3 : RÉSULTATS..... | 52 |
| 3.1. DYNAMIQUE DES TRANSFERTS DE MATIERES | 52 |
| 3.1.1. <i>Introduction et synthèse des résultats marquants.....</i> | 52 |
| 3.1.2. <i>Texte de l'article publié dans Journal of Food Engineering : Mass transfer dynamics during the acidic marination of turkey meat.....</i> | 54 |
| 3.2. ÉVOLUTION DU PH LORS DE L'ACIDIFICATION | 63 |
| 3.2.1. <i>Introduction et synthèse des résultats marquants.....</i> | 63 |
| 3.2.2. <i>Texte de l'article publié dans Meat Science : Evolution of pH during immersion of meat protein matrices in acidic marinades.....</i> | 65 |
| 3.3. INTERACTION SEL-ACIDE DANS LA MODIFICATION DE TEXTURE | 72 |
| 3.3.1. <i>Introduction et synthèse des résultats marquants.....</i> | 72 |
| 3.3.2. <i>Texte de l'article soumis en 2012 à la revue Meat Science : Influence of sodium chloride and pH during acidic marination on mechanical properties of turkey breast meat.....</i> | 73 |
| PARTIE 4 : DISCUSSION GÉNÉRALE | 96 |
| 4.1. UN SEUIL DE TENEUR EN SEL POUR LE REGIME D'HYDRATATION DES PROTEINES DE LA VIANDE. | 96 |
| 4.2. LE ROLE DU PH DANS LES TRANSFERTS D'EAU EN COURS DE MARINAGE EN SOLUTION EAU-SEL-ACIDE. | 103 |
| 4.3. DES DIFFICULTES DE PREDICTION DU PH EN MILIEU « OUVERT ». | 106 |
| 4.4. DES VARIATIONS DE TEXTURE AU COURS DU MARINAGE : UN EFFET DU TEMPS D'IMMERSION OU UN EFFET DU PH ? | 107 |
| 4.5. VERS UNE REPRESENTATION DES PROCESSUS DE TRANSFERT DE MATIERE EN MARINAGE. | 108 |
| CONCLUSIONS GÉNÉRALES ET PERSPECTIVES | 111 |
| RÉFÉRENCES | 114 |
| ANNEXES..... | 121 |

Liste des figures

Figure 1: Schéma de la structure musculaire. D'après Gondret (1997).

Figure 2 : Représentation schématique des protéines myofibrillaires, détaillant l'ensemble des composants majeurs du sarcomère (adapté par C.M. Kemp *et al.*, 2010).

Figure 3 : Formes ioniques des résidus latéraux des acides aminés des protéines myofibrillaires selon le pH et répercussions sur les forces d'attraction électrostatique entre chaînes adjacentes. ASP : acide aspartique, GLU : acide glutamique, ARG : arginine, LYS : lysine.

Figure 4 : Principaux acides aminés acides, (de gauche à droite : acide aspartique et glutamique) et basiques (lysine et arginine). Selon Berg *et al.* (2002).

Figure 5 : Enregistrement typique en analyse de profil de texture (TPA). Force mesurée en fonction du déplacement ou du temps (Caine *et al.* 2003).

Figure 6 : Poulet *adobo* des Philippines (source : www.wikipedia.org).

Figure 7 : Schéma des transferts en marinage.

Figure 8 : Fraction molaire de protons libres par rapport aux protons liés. Acidification d'un homogénat de poitrine de dinde par de l'acide acétique 0,25 N (Goli, Abi Nakhoul, Zakhia-Rozis, Trystram, & Bohuon, 2007).

Figure 9 : Pouvoir tampon (BC, en mmoles d'ions H^+ par unité pH et kg de viande) en fonction du pH, réalisé sur un homogénats de bœuf, pour plusieurs taux de dilution (Puolanne et Kivikari, 2000)

Figure 10 : Perte de matière (kg/kg de matière sèche initiale) au cours de l'immersion en fonction du temps d'immersion (en minutes) pour des teneurs en sel de la saumure de 30 et 70 g de NaCl/l (respectivement bâtonnet de gauche et de droite). (Graiver *et al.* 2006)

Figure 11 : Capacité de rétention d'eau (WHC, en kg/kg d'eau initiale) en fonction de la teneur en NaCl dans la saumure (Graiver *et al.*, 2006) à l'équilibre des transferts de matière.

Figure 12 : Effet du pH sur la capacité de rétention d'eau de la viande de bœuf hachée, en kg d'eau pour 100kg de viande, (A) salée à 2%, (B) non salée. (Hamm, 1986)

Article 1:

Figure 1: Response surface of turkey meat cubes for mass gain MG as a function of time and NaCl molality C_s , for acetic molality $C_{HA} = 1.1$ after soaking in ternary solutions for time = 223 min. i.m. = index referring to the initial meat sample before processing.

Figure 2: Simulation of mass gain (MG) kinetics of turkey breast cubes (1cm^3) at various NaCl molalities (C_s), for the marinade acid molality $C_{HA} = 0.55$. i.m. = index referring to the initial meat sample before processing.

Figure 3: Velocity (v_i) of water, (a) and (c), acid (b) and NaCl (d) at the turkey meat/marinade interface for different molalities of acetic acid (C_{HA}) 0.25 (—) and 1.00 (...) and molalities of NaCl (C_s), 0.15 or 0.5.

Figure 4: Schematic of material transfer, according to the salt molality of the immersion solution ($C_s > 0.3$: situation of shrinkage, internal pressure (P_i) is superior to external pressure (P_e); $C_s < 0.3$: situation of swelling, internal pressure is inferior to external pressure). (.....) represents the meat/solution interface at initial time.

Figure 5: pH of turkey breast meat cubes as a function of acidity at different times for various acetic acid and NaCl molalities: $C_{HA} = 0.25$ and $C_s = 0.5$ (\diamond); $C_{HA} = 1.03$ and $C_s = 0.5$ (\square). Standard deviations were too small to be clearly represented. “Aqueous solution pH” is the pH of an acetic acid aqueous solution, and “model pH” is the pH of an acidified meat homogenate.

Article 2:

Figure 1: Hydrochloric acid (0.1 M) acidification of a turkey breast homogenate and a dab fillet homogenate: (a) evolution of pH as a function of C_{HCl} ($mmol H^+ kg^{-1}$); (b) evolution of buffering capacity β ($mmol H^+ pH^{-1} kg^{-1}$) as a function of pH; (c) evolution of bound proton concentration $[H_b]$ ($mmol H^+ kg^{-1}$) as a function of pH.

Figure 2: Comparison between measured and calculated pH for various meat and fish muscle homogenates (turkey breast, chicken thigh, breast and drumstick, dab fillet and beef sirloin) acidified by acetic acid (0.5N).

Figure 3: Comparison between measured and calculated pH for meat cubes (turkey breast) marinated in solutions of acetic acid (0.25 and 1.03M) and salt (0 to 1.5M) for durations from 0.25 to 6 h.

Article 3:

Figure 1: Evolution of concentration (M) in \square salt, \square lactate, \blacksquare acetic acid and \blacksquare protein content ($kg kg^{-1}$) of marinated turkey breast cubes as a function of immersion time in (a) water-acetic acid (0.25 M) solution, or (b) in water-acetic acid (0.25 M)-salt (0.25 M) solution.

Figure 2: \square Mass gain at marination (MG , kg/kg of raw meat), \square cooking loss (CL , kg/kg of uncooked marinated meat) and \blacksquare global mass gain (GMG , kg/kg of raw meat) as a function of immersion time in (a) water-acetic acid (0.25 M) solution, or (b) in water-acetic acid (0.25 M)-salt (0.25 M) solution.

Figure 13:

- a) gain en eau (WG) de cubes de dindes de 1cm^3 après 223 min. d'immersion en fonction de la teneur en sel ($m_{\text{NaCl}} = C_s$) et en acide acétique ($m_{\text{AH0}} = C_{\text{HA}}$) de la solution d'immersion à 20°C .
- b) gain de masse (MG) de cubes de dindes de 1cm^3 après 223 min. d'immersion en fonction de la teneur en sel (C_s) et en acide acétique (C_{HA}) de la solution d'immersion à 20°C .
- c) gain de masse de cubes de dinde de 1cm^3 après 223 min d'immersion en fonction de la teneur en sel (C_s) et en acide acétique (C_{HA}) de la solution d'immersion à 20°C
- d) gain de masse de cubes de dinde de 1cm^3 après 300 min d'immersion en fonction de la teneur en sel et en acide acétique de la solution d'immersion à 20°C .

Figure 14 : Effet du pH sur le nombre de groupements fixateurs de colorant dans les myofibrilles. Les zones grisées matérialisent les zones de pH où se produit la dissociation des fonctions acides ou basiques des chaînes latérales des aminoacides réactifs. Entre parenthèses figurent le nombre d'équivalents aminoacides pour 105g de myosine. (Hamm 94).

Figure 15 : Cinétiques de gain de masse de cubes d' 1cm^3 de muscles de produits animaux au cours de l'immersion en solution eau – sel (0,3 M) – acide acétique (0,25 M).

Figure 16 : Gain en eau de cubes de poitrine de dinde d' 1cm^3 en fonction du pH atteint au cours de l'immersion en solution eau – sel ($C_s = [0 ; 1,5\text{ M}]$) – acide acétique (0,03 M). Les points sont issus de durées d'immersion de 15, 30, 60, 180 et 360 minutes.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Principales protéines myofibrillaires (Greaser & Pearson, 1999).

Tableau 2 : Principaux collagènes impliqués dans les tissus conjonctifs musculaires. Selon Varnam & Sutherland (1995) et Greaser (1997).

Tableau 3 : Différents termes exprimant la capacité de rétention d'eau de la viande (d'après Hamm, 1986)

Tableau 4 : Composition moyenne de la poitrine de dinde employée.

Article 1:

Table 1: Regression and analysis of variance of the second degree polynomial equations.

Table 2: Doehlert Experimental design.

Article 2:

Table 1: Initial pH (pH₀); L-lactate content; average buffering capacity, $\bar{\beta}$, for pH between 5 and 3.5, and bound proton concentration ([Hb]).

Table 2: Error committed in pH calculation; correction of [Hb] value required to obtain an accurate pH calculation; dry matter loss as a function of immersion time of the turkey meat cubes in marinades; fall in [Hb] value at pH=4 and fall in lactate content as a function of immersion time of the turkey meat cubes in water.

Article 3:

Table 1: (a) evolution of the pH of marinated meat, (b) difference between pH and pH_i* in the meat and (c) difference between pH of the meat and pH of the immersion solution after marination. (The standard deviations all have a value of equal to or less than 0.1 units)

Table 2: Evolution of protein content in cooked meat, W_p^i , and protein loss, PL, as a function of immersion time and type of solution.

Table 3: Mechanical properties of marinated and cooked turkey breast cubes. Marination for 5, 20 or 360 mins in water-acetic acid (0.25 M) solution; or in water-acetic acid (0.25 M)-salt (0.25 M) solution. SF90: shear force at 90% of sample's height.

Tableau 5 : Propriétés de fixation des protons de différents muscles dans le domaine de pH 3 à 4,5.

Annexes :

Tableau 6 : Variations de masse maximales obtenues en marinage sel-eau, acide-eau ou acide-sel-eau (littérature).

Tableau 7 : Effets du pH, du sel et effets combinés sur les propriétés, la structure et la physicochimie de la viande ou de tissus musculaires (récapitulatif bibliographique).

Nomenclature

| | |
|-------------------|--|
| $A^{(t)}$ | Surface d'échange du cube au temps t d'immersion [m^2] |
| $AG^{(t)}$ | Gain en acide acétique de la viande au temps t [kg/100 kg de viande non traitée] |
| β | Pouvoir tampon [$mmol\ H^+ pH^{-1}$ par kg de viande en base humide] |
| $\bar{\beta}$ | Pour tampon « moyen » dans le domaine de pH 3,5 à 5,0. |
| β_{max} | Pour tampon mesuré à pH 3,9 |
| C_{HA} | Molalité en acide acétique de la marinade [mol/kg d'eau] |
| C_s | Molalité en NaCl de la marinade [mol/kg d'eau] |
| CL | Perte de masse à la cuisson [kg/kg de viande avant cuisson] |
| DMI | Perte de matière sèche au marinage [kg/100 kg de viande initiale] |
| D_m | Matière sèche hors NaCl [$kg\ kg^{-1}$] |
| F_{max} | Pic de force de cisaillement mesurée lors du déplacement de la cellule de Craft. [g] |
| GMG | Gain de masse global [kg/kg de viande non traitée] consécutif à marinage + cuisson |
| $[H_b]$ | Teneur en protons liés [eq H^+ /l de milieu réactionnel] |
| $[H_b]_{dm}$ | Teneur en protons liés [eq H^+ /kg de matière sèche de viande] |
| $[H_b]_e$ | Teneur en protons liés à l'équilibre [eq H^+ /l de milieu réactionnel] |
| $m^{(0)}$ | Masse initiale de l'échantillon [kg] |
| $m^{(t)}$ | Masse de l'échantillon au temps t [kg] |
| MG | Gain de masse au marinage [$kg\ kg^{-1}$] |
| $MG^{(t)}$ | Gain de masse de l'échantillon au temps t [kg/100kg de viande non traitée] |
| pH_m | pH moyen d'un cube de viande marinée |
| pH_{sol} | pH de la solution d'immersion |
| pH_0 | pH de la viande avant traitement |
| PL | Perte en protéines au cours du marinage [kg/ 100 kg de protéines initiales] |
| ρ_{HA}^{sol} | Concentration massique en acide acétique dans la marinade [kg/m^3] |
| ρ_s^{sol} | Concentration massique en NaCl dans la marinade [$kg\ m^{-3}$] |
| ρ_w^{sol} | Concentration massique en eau dans la marinade [$kg\ m^{-3}$] |
| $SG^{(t)}$ | Gain en NaCl de la viande au temps t [kg/100kg de viande non traitée] |
| $v_{HA}^{(t)}$ | Vitesse de migration de l'acide acétique à l'interface viande/marinade [$m\ s^{-1}$] |
| $v_s^{(t)}$ | Vitesse de migration du NaCl à l'interface viande/marinade [$m\ s^{-1}$] |
| $v_w^{(t)}$ | Vitesse de migration de l'eau à l'interface viande/marinade [$m.s^{-1}$] |
| $V^{(0)}$ | Volume initial du cube [m^3] |
| W_{DM} | Matière sèche de la viande [kg/kg of meat] |
| W_{HA} | Teneur en acide de la viande [kg/kg of meat] |
| W_s | Teneur en NaCl de la viande [kg/kg of meat] |
| W_w | Teneur en eau de la viande [kg/kg of meat] |
| W_p^0 | Teneur en protéines de la viande non traitée [$kg\ kg^{-1}$] |
| W_p^i | Teneur en protéines de la viande marinée [$kg\ kg^{-1}$] |
| $WG^{(t)}$ | Gain en NaCl de la viande au temps t [kg/100 kg de viande non traitée] |

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Le marinage est un procédé ancestral pratiqué sur une grande variété de produits alimentaires. Dans le cas des produits carnés, et de la viande en particulier, les fonctions principales du marinage sont la conservation, l'aromatisation et l'attendrissement. Ce procédé est employé mondialement car il constitue une bonne voie de valorisation de matières premières de faible qualité marchande, et ce à travers des produits de masse ou des produits locaux très identitaires. Les pays du nord, privilégient des procédés industriels visant l'amélioration des propriétés de la viande au moyen d'ingrédients favorisant plutôt la rétention d'eau et le bilan matière. Dans les pays du sud, les procédés sont plutôt tournés vers l'attendrissement de bas morceaux ou la recherche de saveurs et textures typiques.

Le CIRAD étudie depuis deux décennies les procédés de formulation et de stabilisation des aliments par immersion et, dans ce cadre, a conduit de nombreux travaux d'analyse de la dynamique des transferts de matière et de chaleur mis en œuvre. Ces travaux portent essentiellement sur le transport de l'eau, du sel et de sucres dans des matrices animales ou végétales. Dans le cas plus spécifique du marinage acide, le CIRAD a développé des innovations en partenariat avec le privé en proposant des pilotes industriels et en mettant au point des procédés pour la valorisation de produits de la mer marinés.

On trouve dans la littérature une abondance d'articles relatifs à l'influence de l'évolution du pH *postmortem* de la viande sur ses propriétés fonctionnelles. De nombreux travaux portent également sur l'étude de l'effet du sel ou du pH sur les caractéristiques des protéines myofibrillaires ou du tissu conjonctif, et établissent des corrélations avec les propriétés fonctionnelles. De rares travaux abordent les répercussions de la présence simultanée de sel et d'acides organiques sur les propriétés fonctionnelles de la viande marinée, alors que ces ingrédients sont en général combinés.

La compréhension des changements de propriétés provoqués par l'abaissement du pH en présence de sel nécessite une observation de la dynamique des transports d'eau et de solutés dans un domaine large de concentrations des solutions d'immersion. L'évolution du pH de la matrice, en particulier, nécessite une prise en compte spécifique, car cette caractéristique influence considérablement les propriétés du futur produit mariné. Enfin, il est nécessaire d'établir un lien entre les caractéristiques du produit mariné et les propriétés obtenues lors de ces changements.

Le présent travail de thèse s'inscrit dans cette démarche, en développant 3 volets complémentaires :

- La détermination de l'effet dynamique des concentrations en sel et acide sur l'évolution de la masse, du pH et des teneurs en eau et solutés de la viande, travail apportant des enseignements sur les mécanismes de transferts.
- L'analyse des équilibres chimiques et de l'évolution du pH de la viande en cours de marinage en lien avec les transferts de matières, en prenant en compte les spécificités de la matrice.
- L'analyse des interactions sel/pH en cours de marinage et leurs répercussions sur les propriétés fonctionnelles.

Chacun de ces volets de l'étude sera abordé à travers la présentation d'un article de revue suivi d'une discussion synthétique.

Enfin, une discussion générale permettra de formuler en détail les acquis et limites de ce travail sur la compréhension du marinage de la viande, et d'ouvrir sur des perspectives de développement et d'approches expérimentales complémentaires.

PARTIE 1 : ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1 GÉNÉRALITÉS SUR LA VIANDE

1.1.1 Composition et structure

1.1.1.1. Composition

Le muscle est une des principales parties de l'animal consommée par l'homme, à l'issue d'une série de préparations qui lui permettent de devenir viande et d'acquérir ainsi l'ensemble des qualités attendues : tendreté, jutosité et goût en particulier (Varnam & Sutherland, 1995).

Chacune des composantes de cette qualité est liée à la composition et aux propriétés de l'ensemble des constituants de la viande. La composition et l'état des constituants structurels sont le résultat de facteurs multiples liés tant à l'animal lui-même qu'à l'itinéraire technique qu'il a suivi depuis l'élevage jusqu'à l'étal du boucher.

Le tissu musculaire se compose en moyenne de 70-75% d'eau, de 19-23 % de protéines, de 3 à 5% de matières grasses ainsi que de matières minérales et de saccharides à hauteur d'environ 1% chacun (Kijowski, 2001).

Les constituants principaux sont l'eau et les protéines, éléments nutritifs essentiels. Ainsi, il n'est pas étonnant que, parmi les qualités principales de la viande, figurent l'aspect et la texture, prise particulièrement sous l'angle de la jutosité et la tendreté (Ergezer & Gokze, 2011; Kuypers & Kurth, 1995; Risvik, 1994; Wood, Nute, Fursey, & Cuthbertson, 1995). La teneur en matière grasse, très variable selon le muscle, joue également un rôle important dans l'évaluation sensorielle de la viande en apportant notamment du moelleux. Les sucres sont en quantité négligeable, du fait de leur disparition au cours de la maturation. Le résultat en est une teneur acide lactique variable, se situant entre 50 et 150 mmol par kg de viande.

1.1.1.2. Structure du muscle

La structure du muscle est représentée figure 1.

Le muscle est organisé en une structure hiérarchisée, autour d'une cellule de base, contractile (la fibre musculaire,) gainée d'un tissu conjonctif, l'**endomysium**. Chaque groupe ou faisceau de fibres est lui-même entouré d'un second niveau de tissu conjonctif, le **pérимysium**. Le groupe de fibres de base présente un diamètre de l'ordre de 1 mm. Ces groupes de fibres sont eux-mêmes regroupés en un niveau supérieur gainé de pérимysium plus épais. Le pérимysium est constitué de fibres de collagène arrangées en filaments qui forment un angle variable avec

l'axe de la fibre musculaire selon son diamètre, conséquence de son allongement ou raccourcissement (Lepetit, 2008; Varnam & Sutherland, 1995).

Enfin, le muscle entier est maintenu par le niveau supérieur de tissu conjonctif épais : l'**épimysium**.

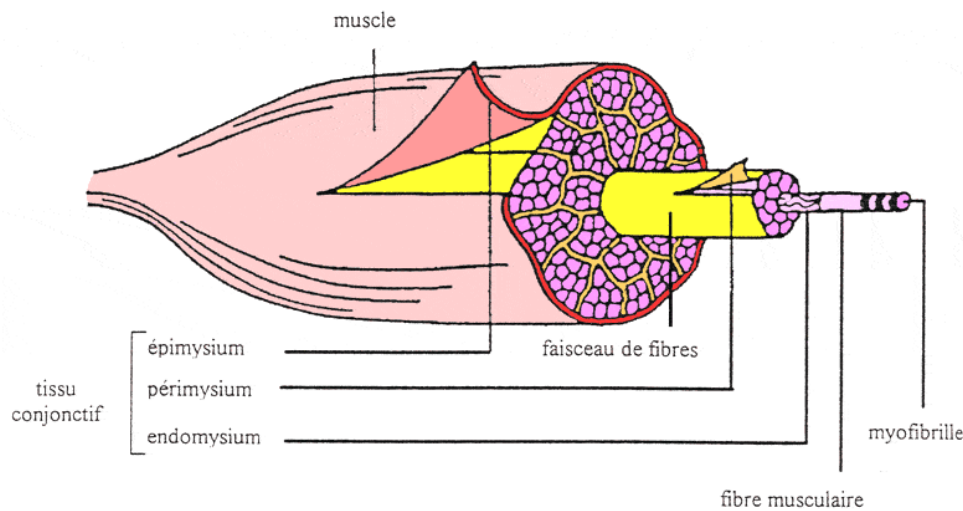


Figure 1 : Schéma de la structure musculaire. D'après Gondret (1997).

La membrane de la fibre musculaire est appelée sarcolemme. Le cytoplasme de la cellule, ou sarcoplasme, semi-fluide, comporte plusieurs noyaux, des organites comme les lysosomes, des composés solubles comme la myoglobine, des enzymes et des métabolites intermédiaires (Varnam & Sutherland, 1995).

L'observation de la fibre en microscopie électronique révèle une organisation de base sous forme de filaments fins et épais, et de stries claires et sombres perpendiculaires à ces filaments. La figure 2 schématise l'organisation des protéines myofibrillaires au sein de l'unité contractile de base, le sarcomère. (Kemp, Sensky, Bardsley, Buttery, & Parr, 2010). On y distingue les protéines contractiles, les filaments de myosine épais, et la trame d'actine, sur laquelle s'accroche la myosine lors de la contraction. Cette structure contractile, organisée en myofibrilles, occupe environ 80% du volume interne de la fibre. Les protéines du muscle sont variables en poids moléculaire, organisation spatiale et propriétés physicochimiques et fonctionnelles.

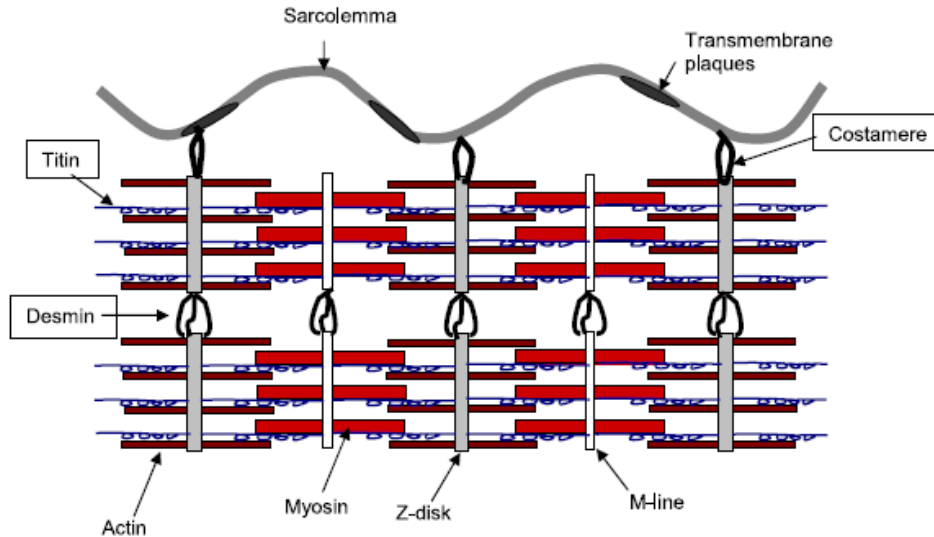


Figure 2 : Représentation schématique des protéines myofibrillaires, détaillant l'ensemble des composants majeurs du sarcomère (adapté par C.M. Kemp *et al.*, 2010)

On peut les diviser en 3 familles selon leur solubilité (Greaser & Pearson, 1999). Les protéines sarcoplasmiques sont facilement extraites par un solvant de faible force ionique (< 50 mM). L'extraction des protéines myofibrillaires nécessite la mise en œuvre d'un solvant de force ionique plus élevée, comme de l'iodure de potassium 1.1M. Dans la pelote insoluble résiduelle, on trouve les protéines des tissus conjonctifs ou protéines stromatiques.

1.1.1.3. Description et propriétés des protéines musculaires

1.1.1.3.1. Les protéines sarcoplasmiques

Le tissu musculaire contient environ 55 mg de protéines solubles par gramme (sur base humide). On y trouve principalement (Greaser & Pearson, 1999; Kijowski, 2001) :

- Les enzymes du cycle glycolytique (70% des protéines sarcoplasmiques).
- La myoglobine, protéine de transport d'oxygène, responsable de la couleur rouge du muscle.

Ces protéines sont peu impliquées dans la texture et la rétention d'eau du muscle, bien qu'elles représentent 30 à 35% des protéines musculaires.

Toutefois, on trouve dans cette fraction des enzymes très impliquées dans l'attendrissement durant la maturation, comme les protéases neutres du cytoplasme (parmi lesquelles les calpaines, activées par le calcium), les protéases acides lysosomales (cathepsines) et des enzymes de dégradation des protéoglycanes des tissus conjonctifs. D'autres constituants

présents sont activateurs ou inhibiteurs des protéases, et auraient à ce titre un rôle important également lors de la maturation (Kijowski, 2001).

1.1.1.3.2. Les protéines myofibrillaires

Ce sont les protéines majeures du muscle avec 115 mg/g de muscle (b.h.). Le tableau 1 dresse la liste des principales protéines qui composent ce groupe.

Tableau 1 : Principales protéines myofibrillaires (Greaser & Pearson, 1999).

| <i>Protéines</i> | <i>% (poids/poids)</i> |
|---------------------|------------------------|
| Myosine | 43 |
| Actine | 22 |
| Titine (connectine) | 8 |
| Tropomyosine | 5 |
| Troponine | 5 |
| Nébuline | 3 |
| Protéine-C | 2 |
| Protéine-M | 2 |
| α -actinine | 2 |

La Myosine

C'est une protéine de forme fibreuse, de haut poids moléculaire (500 kDa), qui représente environ la moitié des protéines myofibrillaires. La molécule comporte 6 chaînes polypeptidiques, elle se présente sous forme d'un long filament terminé par une double-tête globulaire. Dans un filament épais de myosine, dans les conditions physiologiques, environ 200 molécules de myosine sont agrégées. La myosine contient de nombreux acides aminés « acides », (acides aspartique et glutamique), et de nombreux acides aminés « basiques » (histidine, lysine et arginine). Son pH isoélectrique (ou pH_i) est de l'ordre de 5.3, ce qui signifie qu'au pH ultime habituel des viandes (aux alentours de 6), la charge électrique nette de ses chaînes latérales est négative, alors qu'après un traitement de marinage, les charges qui domineront pourront être les charges positives (Kijowski, 2001).

L'actine

L'actine représente environ 20% des protéines myofibrillaires, dont elle constitue les filaments fins. Le monomère, globulaire, a un poids moléculaire de 42 kDa, appelé actine-G. Dans les conditions physiologiques, c'est un polymère en double hélice (l'actine-F). Elle est associée à la troponine et à la tropomyosine pour former les filaments fins de la trame

myofibrillaire (Greaser & Pearson, 1999). Le pH_i de l'actine est de 4.8. Le filament fin d'actine est composé de 400 molécules d'actine-G (Kijowski, 2001).

Le complexe actomyosique

Durant la contraction du muscle ou *postrigor*, lorsque l'ATP est épuisé, l'actine et la myosine s'associent fortement au moyen de liaisons électrostatiques, établies entre les groupements latéraux chargés de leurs acides aminés (Kijowski, 2001).

Les protéines du cytosquelette

Un certain nombre de filaments protéiques reliant les protéines contractiles entre elles et avec le sarcolemme constitue la trame du cytosquellette (Kijowski, 2001; Robson, Huiatt, Bellin, Omary, & Pierre, 2004; Varnam & Sutherland, 1995).

Ainsi, la titine, ou connectine, qui représente 7 à 10% des protéines myofibrillaires dans le muscle de lapin ou de poulet, est la plus abondante. Elle joue un rôle important dans le maintien de l'intégrité du muscle lors de la contraction et de l'extension, en reliant les filaments épais de myosine aux disques Z (cf. figure 2). La nébuline forme des filaments non extensibles, renforce les filaments d'actine, en y étant associée et ancrée dans les disques Z. D'autres protéines du cytosquelette participent au renforcement des myofibrilles : la desmine, qui relie entre eux les disques Z de myofibrilles adjacentes, et la vinculine, protéine qui relie les disques Z au sarcolemme.

Types de muscles et de fibres (Varnam & Sutherland, 1995)

Il existe une classification sommaire des muscles en muscles « rouges » ou « blancs », selon qu'ils sont plus ou moins riches en myoglobine. Les muscles rouges sont de ce fait tournés vers des métabolismes plus oxydatifs que glycolytiques, et adaptés à des mouvements lents et répétitifs. Ils sont très vascularisés. Les fibres qui les constituent sont plus riches en mitochondries, situées entre les myofibrilles. Par opposition, les muscles blancs contiennent plus de fibres claires contenant des myofibrilles séparées seulement par des canaux de stockage de calcium du réticulum sarcoplasmique, et peu de mitochondries. Ces différences métaboliques ne sont pas sans répercussions sur les propriétés technologiques de la viande qui en résultera, compte-tenu des conséquences sur le déroulement de la maturation qu'elles sous-tendent. Des classifications plus fines distinguent 3 types selon la « rapidité » des fibres et l'intensité des phénomènes respiratoires : les muscles lents oxydatifs et les muscles rapides oxydatifs ou glycolytiques. Les fibres ont elles-mêmes été classées selon des règles

apparentées, pour distinguer respectivement les fibres de type I, IIA ou IIB dans une approche simplifiée.

1.1.1.3.3. Les protéines extracellulaires : le tissu conjonctif.

Ces protéines soutiennent le muscle au moyen des tendons, de l'épimysium, du périmysium et de l'endomysium (Figure 1). Les tissus conjonctifs se présentent en général sous forme de fibres noyées dans une trame de protéoglycanes et glycoprotéines. Le collagène est la protéine majeure des tissus conjonctifs (plus de 40% de la masse sèche des protéines de cette fraction), et à ce titre, ces derniers doivent au collagène leurs propriétés mécaniques (Varnam & Sutherland, 1995). Les tissus conjonctifs représentent 20 à 30 mg par gramme de muscle. Les fibres de type I et III sont les plus représentées.

L'endomysium est un réseau de fibrilles fines et légèrement ondulées, tandis que le périmysium, qui représente 90% du tissu conjonctif, est une trame de fibres de collagène épaisses et hautement ondulées. Le tableau 2 précise la localisation des principaux collagènes des tissus conjonctifs.

Tableau 2 : Principaux collagènes impliqués dans les tissus conjonctifs musculaires. Selon Varnam & Sutherland (1995) et Greaser (1997).

| <i>Types</i> | <i>Longueur (nm)</i> | <i>Propriétés</i> | <i>Localisation principale</i> |
|--------------|----------------------|-------------------|--------------------------------|
| I | 300 | Fibreuse | Epimysium |
| III | 300 | Fibreuse | Perimysium |
| IV | 420 | Réseau | Endomysium |
| V | 300 | Fibreuse | Epimysium |

Le collagène. (Lepetit, 2008; Purslow, 2005)

Les fibres de collagène sont très raides (module élastique de l'ordre de 0,5 à 1 GPa).

Le collagène représente 1,5 à 10% de la matière sèche du muscle.

La microfibrille, unité de base, associe des molécules de tropocollagène (300 kDa), qui sont constituées d'un enroulement de 3 chaînes polypeptidiques de type α (hélice droite comportant 3,6 résidus par tour, et dont la structure secondaire repose sur une liaison H établie entre un atome d'oxygène de carbonyle et un -NH appartenant à un aminoacide situé 4 positions plus loin dans la chaîne). La conformation moléculaire du tropocollagène repose sur des liaisons hydrophobes, hydrogène et électrostatiques. Avec l'âge, on assiste à un raidissement du collagène lié à l'apparition de réticulations à l'intérieur et entre les molécules de tropocollagène. Les microfibrilles se réunissent en macrofibrilles, dont un grand nombre

s'associe dans la fibre de collagène. La glycine représente 30% des acides aminés du collagène, et l'hydroxyproline et l'hydroxylysine en sont des aminoacides spécifiques. Le pH_i du collagène est situé entre 7,0 et 7,8 (Varnam & Sutherland, 1995). Le collagène est partiellement soluble dans les solutions de sels neutres, les acides et les bases. Celui du poisson est particulièrement soluble (à 80%) dans ce type de solutions, même diluées, au contraire du collagène des animaux terrestres. La solubilité du collagène du muscle de bœuf dans l'eau chaude (90°C) est de 12-23%. Le collagène gélatinise à chaud. La température de dénaturation du collagène se situe entre 5 et 50°C selon l'espèce considérée et la teneur en hydroxyproline. La solubilisation qui suit la dénaturation thermique dépend de la proportion de réticulations thermorésistantes (Kijowski, 2001).

L'élastine

L'élastine représente en général moins de 2% de la matière sèche du muscle, et le module élastique de la fibre d'élastine est de l'ordre de 0,1 à 0,4 GPa.

1.1.2. Les propriétés de la viande et leurs déterminants

Dans cette partie, nous nous attacherons à définir quels sont les principales caractéristiques ou principaux facteurs intrinsèques des tissus musculaires pour les mettre en relation avec les principales propriétés fonctionnelles qu'ils déterminent.

En tant que constituants majeurs, les protéines du muscle contribuent essentiellement aux propriétés fonctionnelles et organoleptiques de la viande telles que perçues par le consommateur (Smith, 2001).

Parmi les propriétés les plus importantes dans l'appréciation de la qualité de la viande par le consommateur figurent la tendreté et la jutosité. Les scientifiques et industriels étudient depuis des décennies les déterminants de la tendreté et de la jutosité tout au long de la filière et notamment durant la maturation du muscle ainsi que les traitements ou préparations qui peuvent améliorer les qualités culinaires de la viande (Xiong, 2005).

La tendreté, la jutosité de la viande et sa capacité à retenir l'eau tout au long de la chaîne de transformation sont des propriétés qui peuvent être évaluées de façons sensorielles et instrumentales (Smith, 2001).

Selon Xiong et Klinth (2004), on distingue la texture et les propriétés qui lui sont liées comme la capacité de rétention d'eau, le gonflement des fibres, la solubilité/l'extractibilité, les pouvoirs de gélification, d'émulsification, d'adhésion et de liaison.

L'amélioration de ces propriétés passe inévitablement par leur mise en corrélation avec les caractéristiques du muscle ou de la viande identifiées comme influentes, parmi lesquelles : le pH des tissus, la teneur en collagène et ses propriétés (solubilité, taux de réticulation, etc...), l'état des myofibres (longueur des sarcomères et diamètre des fibres, taux de fragmentation, le type et la proportion relative des fibres, le taux d'hydrolyse des protéines myofibrillaires), la teneur en eau, l'oxydation des protéines, leur hydrophobie, etc...

1.1.2.1. Déterminants

1.1.2.1.1. Effet de la maturation sur les protéines musculaires

Dans les jours qui suivent l'abattage, le muscle est l'objet de processus de maturation, qui, bien conduits, amènent à un attendrissement de la viande. Ces processus ont été très étudiés, et un consensus s'est établi autour du fait que l'attendrissement résulte de l'action d'endopeptidases sur la structure myofibrillaire.

Si deux voies enzymatiques sont bien identifiées : les calpaines et les cathepsines, il existe un débat dans la communauté scientifique entre ceux qui réduisent le rôle d'attendrissage aux calpaines, et ceux qui privilégient l'action de deux enzymes, voire celle d'un système multienzymatique, impliquant des protéosomes, caspases, etc.... (Herrera-Mendez, Becilab, Boudjellal, & Ouali, 2006; Kemp et al., 2010; Thomas, Gondoza, Hoffman, Oosthuizen, & Naude, 2004)

Nous n'aborderons ici que les deux principales enzymes connues :

- Les cathepsines (essentiellement B, L et D), enzymes lysosomales; qui dégradent principalement, à pH acide, l'actine, la myosine, et le collagène.
- Les calpaines I et II, sarcoplasmiques, de pH optimal neutre, qui dégradent essentiellement les protéines du cytosquelette.

Les dégradations observées *post mortem* touchent surtout à l'intégrité des protéines du cytosquelette, et conduisent à un affaiblissement des disques-Z, affectant l'intégrité des myofibrilles. Le rôle des calpaines est ici clairement impliqué. Ces enzymes sont activées par le calcium, abondant dans les heures qui suivent l'abattage. Pour ce qui est de l'action des cathepsines, les choses sont plus complexes. Dans les premiers jours qui suivent la mort, on n'observe pas d'hydrolyse de l'actine et de la myosine, ce qui met en doute leur action et donc un rôle significatif dans l'attendrissement. Ces enzymes devant être libérées des lysosomes, et

étant actives à un pH voisin de 5, leur action serait plus tardive et moins significative que celle des protéases sarcoplasmiques.

Par ailleurs, la présence de certains inhibiteurs de l'action des sérine-peptidases en cours de maturation a été identifiée récemment comme un bon prédicateur de la dureté de la viande (Zamora, 2005, cité par Kemp, 2010).

Il est possible d'agir sur le déroulement de ces mécanismes enzymatiques par la gestion de la température en cours de maturation, ou en injectant des préparations acides (Berge et al., 2001; Ertbjerg, Mielche, Larsen, & Moller, 1999; Han, Morton, Bekhit, & Sedcole, 2009) pour favoriser l'action des cathepsines, ou au contraire des mélanges alcalins ou augmentant la force ionique pour activer les systèmes enzymatiques sarcoplasmiques (Lee, Stevenson-Barry, Kauffman, & Kim, 2000).

Offer et Cousins (1992) ont observé en microscopie les changements de structure qui s'opèrent durant la maturation. A l'occasion de l'établissement de la *rigor mortis*, des espaces se forment progressivement entre fibres et endomysium, ainsi qu'entre perimysium et faisceaux de fibres. Ces espaces, en se remplissant de fluide issu des fibres du fait de l'abaissement de pH, sont sources d'exsudation ultérieure.

1.1.2.1.2. Le pH

Le pH est une donnée fondamentale pour son influence sur les propriétés fonctionnelles de la viande. A la mort de l'animal, le pH du milieu intramusculaire est proche de la neutralité, alors que l'apport d'oxygène aux muscles est stoppé du fait de l'arrêt de la respiration. Pour régénérer l'ATP à partir de l'ADP disponible, la glycolyse anaérobie se met en marche, sous l'action des enzymes glycolytiques sur le glycogène. Une fois ces réserves épuisées, la glycolyse s'arrête. Par ailleurs, par accumulation de lactate et libération de protons lors de l'hydrolyse de l'ATP, le pH du milieu est abaissé jusqu'à environ 5,5 (Pösö & Puolanne, 2005). Selon le muscle considéré après résolution de la *rigor mortis*, le pH se stabilise aux alentours de 6,0.

Sur la figure 3, établie d'après les données de Hamm *et al.* (1961), sont représentées les forces d'attraction électrostatique entre chaînes myofibrillaires adjacentes qui s'exercent entre :

- les groupements latéraux carboxyliques des acides aminés « acides » : acides aspartique et glutamique principalement, dont le pK_a est voisin de 4, et qui sont donc majoritairement sous forme $R-COO^-$ à un pH supérieur à 4 (cf. figure 4)

et

- les groupements latéraux aminés des acides aminés « basiques » : lysine et arginine principalement, dont le pK_a est voisin de 11, et qui sont donc majoritairement sous forme $R-NH_3^+$ à un pH inférieur à 11 (cf. figure 4).

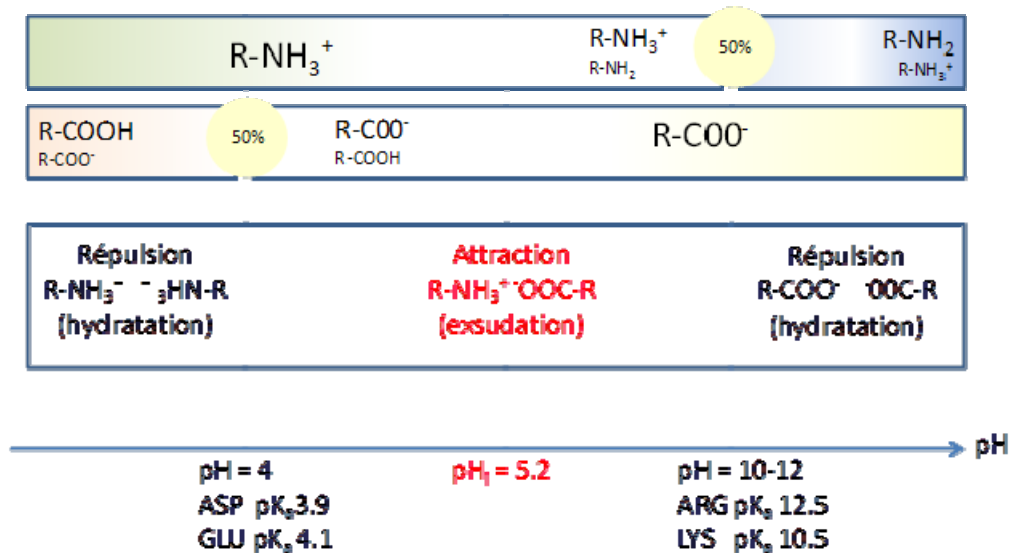


Figure 3 : Formes ioniques des résidus latéraux des acides aminés des protéines myofibrillaires selon le pH et répercussions sur les forces d'attraction électrostatique entre chaînes adjacentes.
ASP : acide aspartique, GLU : acide glutamique, ARG : arginine, LYS : lysine.

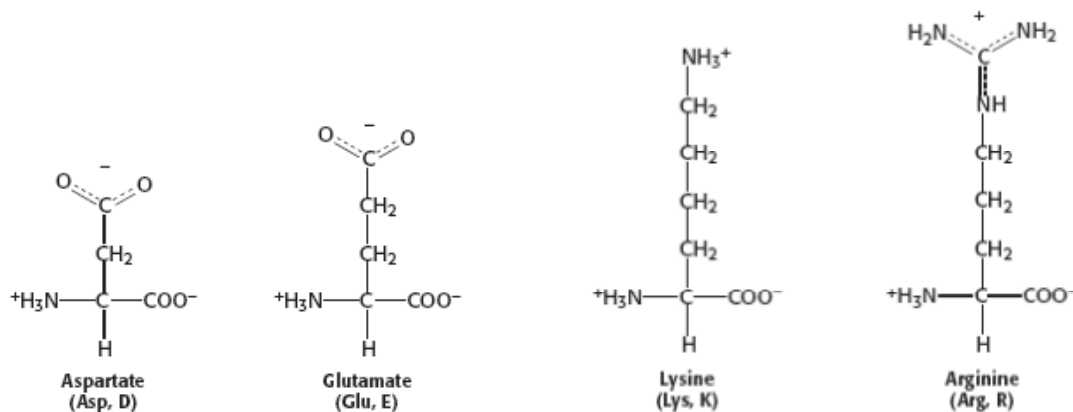


Figure 4 : Principaux acides aminés acides, (de gauche à droite : acide aspartique et glutamique) et basiques (lysine et arginine). Selon Berg *et al.* (2002)

Au pH_i des protéines myofibrillaires, qui est d'environ 5,2, la charge électrique globale est nulle, les charges positives s'équilibrant avec les charges négatives. Ainsi, les forces d'attraction électrostatique entre chaînes protéiques adjacentes sont à leur niveau le plus haut.

Ce pH peut être atteint en cas de défaut de déroulement de la maturation (viandes PSE), ou dans le cadre d'un traitement technologique comportant une acidification comme le marinage. La conséquence en est alors une rétraction des myofibrilles et une expulsion d'eau vers les espaces entre fibres et endomysium, ainsi qu'entre les faisceaux de muscles et le réseau pérимysial. La formation de canaux longitudinaux entre le pérимysium et les faisceaux de fibres permettra l'écoulement d'exsudat par gravité ou sous la pression mécanique liée à des manipulations, par les surfaces de découpe de la viande (Honikel, 1998).

Dans le cas d'une viande « normale », d'un pH supérieur au pH_i , l'eau intracellulaire est mieux retenue, du fait des répulsions électrostatiques entre charges négatives en excès.

Ainsi, le pH des tissus, par son effet sur les charges des groupements latéraux des protéines structurales, a une influence sur la rétention d'eau, mais aussi la tendreté, le gonflement des fibres, la diminution des pertes à la cuisson, propriétés fonctionnelles de grande importance dans l'appréciation de la qualité de la viande. (Gault, 1985). La maîtrise du pH de la viande, que ce soit le pH ultime ou le pH atteint dans le cadre d'un procédé de transformation est donc une nécessité.

Maîtriser le pH dans un procédé de transformation repose en partie sur la connaissance du pouvoir tampon des tissus considérés (Kyla-Puhju, Ruusunen, Kivikari, & Puolanne, 2004; Puolanne & Kivikari, 2000). Cette grandeur indique la résistance au changement de pH qu'oppose le matériau lors de l'ajout d'une base ou d'un acide. La viande possède un pouvoir tampon important, lié à la présence (i) de dipeptides (carnosine, anserine en particulier), (ii) de lactate (qui peut dépasser 100 mmol kg^{-1} dans des muscles fortement glycolytiques) et (iii) des groupements « titrables » des protéines du muscle, c'est-à-dire des chaînes latérales à caractère acide ou basique (représentées aux figures 3 et 4). Pour un tissu donné, le pouvoir tampon est spécifique du pH auquel le milieu se trouve. Il varie selon les muscles et le pH considéré entre 30 et $80 \text{ mmol H}^+ \text{ pH kg}^{-1}$ (Kivikari, 1996). Le pouvoir tampon en fonction du pH peut être résumé par le pouvoir tampon moyen dans un intervalle de pH donné, ou la valeur des maxima ou minima éventuellement présents et les pH auxquels ils ont été identifiés (voir aussi § 1.2.4.1.1).

1.1.2.1.3. Les éléments structurels

Le collagène

L'hypothèse généralement admise est que la texture de la viande est sous dépendance majeure du collagène. Toutefois, la qualité de ce collagène doit être appréhendée pour expliquer des différences de texture entre muscles. Il existe néanmoins une corrélation entre la quantité

totale de collagène et la qualité culinaire des viandes (Kijowski, 2001). Dransfield (1977) a conclu que, bien que ni des panels sensoriels ni des méthodes instrumentales ne soient capables de mettre en évidence le lien entre dureté et teneur en collagène total, ce critère lui semble plus pertinent que le taux de collagène thermorésistant.

- Pour plusieurs types d'animaux (porc, mouton, bœuf), des chercheurs ont établi un lien entre solubilité élevée du collagène et tendreté. (Fang, Nishimura, & Takahashi, 1999; Young & Braggins, 1993). Cette corrélation a toutefois été remise en question du fait de sa variabilité d'un muscle à l'autre, ou même purement rejetée (Touraille, Monin, & Legault, 1989).
- Le périmysium, tissu conjonctif majoritaire du muscle (80 à 90% m/m) a un rôle déterminant dans les propriétés mécaniques du muscle (Lepetit, 2008; Purslow, 2005).

Le système myofibrillaire

Les conditions de déroulement des manipulations et phases *post mortem* ont un effet sur la longueur retrouvée par les muscles à l'issue de la résolution de la *rigor mortis*. Ce critère est souvent pris en compte pour les corrélations qu'il peut présenter avec la dureté : un muscle qui ne s'est pas totalement relâché présentera des sarcomères de faible taille. Un lien direct avec la dureté a été établi par Olsson, Hertzman and Tornberg (1994) pour des raccourcissements allant jusqu'à 52% de la taille de repos des muscles étudiés. Il a été avancé que sur une viande présentant des sarcomères courts, les espaces intercellulaires sont accrus par rapport à une viande « normale ». Au cours de la cuisson, le collagène va se contracter autour des fibres, librement dans un premier temps, du fait de ces espaces intercellulaires. Le résultat de la cuisson au-dessus de 60°C sera une contraction intense des tissus conjonctifs dans le cas de muscles aux sarcomères courts, et une viande cuite présentant une plus forte densité de fibres par unité de section, donc perçue comme plus dure (Lepetit, Grajales, & Favier, 2000; Tornberg, 1996).

Le taux de fragmentation des myofibrilles, ou MFI, est souvent mesuré, car, comme indicateur du degré d'hydrolyse, il renseigne sur l'affaiblissement de la structure myofibrillaire, donc sur la tendreté. Pour Culler *et al.*, (1978) le MFI est un meilleur prédicateur de la tendreté du *Longissimus* bovin que la solubilité du collagène ou la longueur de sarcomère. Il rendrait compte de plus de 50% de la variabilité de tendreté de la viande selon ces auteurs.

1.1.2.2. Les propriétés fonctionnelles

Parmi les propriétés fonctionnelles qui peuvent être appréhendées pour rendre compte de la qualité d'une viande ou d'un traitement appliqué à cette viande, figurent principalement la texture, la capacité de rétention d'eau ou de liquide, le goût, la couleur et l'aspect, l'aptitude à la conservation. Dans cette partie, nous ne traiteront que des propriétés liées à la rétention de l'eau et à la texture.

1.1.2.2.1. Capacité de rétention de liquide.

Plus que la teneur en eau elle-même, l'intensité des forces qui retiennent l'eau dans les tissus musculaires selon les conditions du milieu est d'importance pour les propriétés fonctionnelles de la viande. Les protéines myofibrillaires jouent un rôle prépondérant en la matière (Graiver, Pinotti, Califano, & Zaritzky, 2006). L'eau est présente sous diverses formes dans les tissus musculaires. Une faible partie est présente comme eau de constitution (moins de 0,1% de l'eau des tissus). 5 à 15% de l'eau est présente comme eau à faible mobilité (ou eau interfaciale, ou d'hydratation). Cette eau est en surface des protéines. Le reste de l'eau intercellulaire est considéré comme libre au sens physico-chimique. Il existe également de l'eau extracellulaire. Sa mobilité est intermédiaire entre celle de l'eau pure et celle de l'eau intercellulaire. La proportion de cette eau extracellulaire est soumise aux variations de volume des fibres (Hamm, 1986).

Selon Hamm (1994), les modifications de pouvoir de rétention d'eau (et de pertes à la cuisson) de la viande sont essentiellement liées à des transferts d'eau entre les compartiments intra- et extra-cellulaires, ou à une rétraction des tissus conjonctifs, mais non à des altérations du système myofibrillaire. Les myofibrilles occupent environ 70% du volume du muscle (et plus de 80% des fibres), cela explique que la plupart de l'eau du muscle soit située dans les myofibrilles. C'est dans cette trame myofibrillaire que l'eau libre est retenue. Certains auteurs, comme Offer & Knight (1988), considèrent que les mouvements de l'eau dans la myofibre sont essentiellement liés à l'expansion ou à la rétraction myofibrillaire. R. Hamm, auteur des premiers travaux sur les interactions électrostatiques entre protéines dans la viande selon le pH, propose un schéma complémentaire dans lequel le pouvoir important d'imbibition d'eau de la myosine est fondamental. Toutefois, lorsque le gonflement des myofibrilles est limité par l'augmentation des forces d'attraction entre chaînes protéiques de signes opposés, ou par la création de ponts hydrogènes ou autres ponts entre protéines, un retrait se produit et de l'eau libre peut être expulsée et s'écouler sous l'effet des pressions internes (Hamm, 1994).

Pour Offer et Trinick (1983) l'eau serait principalement retenue dans le muscle par des forces de capillarité. Il est possible, lors de l'application d'une force sur des tissus musculaires, dans des conditions standardisées, d'expulser une partie de cette eau libre. On pourra alors en déduire un pouvoir de rétention d'eau des tissus considérés, corrélable avec d'autres caractéristiques ou propriétés de la viande dont ils proviennent. Hamm (1986) a proposé de décliner cette capacité à retenir ou à perdre de l'exsudat selon plusieurs critères souvent confondus dans la littérature, et regroupés au sein du tableau 3.

Tableau 3 : Différents termes exprimant la capacité de rétention d'eau de la viande (d'après Hamm, 1986)

| | |
|---|--|
| Pertes d'exsudat ou <i>Drip Loss</i> (DL) | Formation d'exsudat sans application de forces externes (sauf thawing loss) |
| Pertes à la décongélation ou <i>Thawing loss</i> (TL) | Formation d'exsudat de la viande après décongélation sans application de forces externes. |
| Pertes à la cuisson ou <i>Cooking loss</i> (CL) | Exsudation de la viande à la cuisson avec ou sans application de forces externes |
| Exsudat extractible ou <i>Expressible juice</i> (EJ) | Exsudation de la viande non cuite lors de l'application de forces externes comme le pressage, la centrifugation ou la succion (par volumétrie capillaire par exemple). |

On trouve également souvent dans la littérature, les termes moins rigoureux de « *water binding capacity* » ou « *water holding capacity* », pour désigner la capacité de rétention d'eau, qui correspondent en réalité à une capacité des tissus musculaires à retenir leur fluide de constitution, à l'état cuit ou cru, et non pas rigoureusement l'eau.

Il existe de nombreuses méthodes pour mesurer cette propriété (*Drip loss* ou *expressible moisture*), qui peut être mesurée sur viande hachée ou intègre, crue ou cuite (Hamm, 1986; Hertog-Meischke, Laack, & Smulders, 1997; Honikel, 1998; Kauffman, Eikelenboom, van der Wal, Engel, & Zaar, 1986; Trout, 1988; Van Oeckel, Warnants, & Boucqué, 1999).

Les principales méthodes mises en œuvre sont basées sur les principes suivants : (i) par gravité en suivant la perte de poids, (ii) par pressage d'un échantillon et mesure du diamètre de la tache d'exsudat sur un papier filtre ou mesure de la masse d'exsudat ou (iii) par centrifugation et mesure du poids d'exsudat relâché par l'échantillon de viande. La capacité de rétention d'eau est exprimée en masse d'eau retenue en proportion de l'eau présente initialement dans l'échantillon.

La mesure des pertes à la cuisson (ou *cooking loss*) se fait en général par cuisson d'un échantillon au bain-marie dans un sachet. L'échantillon est pesé avant et après cuisson, et les

pertes à la cuisson sont exprimées en masse d'exsudat en proportion de la masse d'échantillon initial. Les conditions de cuisson sont très variables, ce qui rend les résultats difficilement comparables d'une étude à l'autre. Aktas *et al.* (2003b) par exemple, proposent de cuire la viande dans un four à 200°C durant 30 minutes, tandis que Burke et Monahan (2003) pratiquent une cuisson au bain-marie jusqu'à 72°C à cœur (immersion en eau à 80°C durant 2 minutes).

1.1.2.2.2. Texture

La texture de la viande s'apprécie généralement sous l'angle de nombreux descripteurs parmi lesquels la tendreté et la jutosité sont des propriétés essentielles. La méthode la plus directement corrélable avec l'acceptabilité par le consommateur est l'évaluation sensorielle, car elle s'affranchit des biais liés au caractère fondamental ou imparfaitement imitatif inhérent aux méthodes instrumentales de mesure des propriétés mécaniques. Les méthodes de descriptions sensorielles peuvent s'appuyer sur des procédures normalisées, comme par exemple celle de l'AMSA¹. Un jury entraîné d'une dizaine de membres, ou un jury consommateurs de plusieurs dizaines d'individus évalue les échantillons préparés et cuits selon le protocole prévu par le guide. Pour ce qui est du protocole AMSA par exemple, un questionnaire type est prévu, avec des descripteurs à noter sur une échelle ordonnée croissante en intensité à huit niveaux. Pour du bœuf par exemple, et pour un jury entraîné, les descripteurs peuvent être : arôme et flaveur typiques de bœuf, jutosité initiale, persistance de la jutosité durant la mastication, dureté à la première mastication, persistance de tissus conjonctifs en bouche en fin de mastication, goût salé (Hoffman, Muller, & Vermaak, 2008). Selon ce même guide, il est possible de noter sous forme d'un unique descripteur, la jutosité et la tendreté perçues (McGee, Henry, Brooks, Ray, & Morgan, 2003), pour un jury de consommateurs. Dans des études plus spécialement dédiées à la tendreté, une échelle unique de « tendre » à « dur » peut être employée (Li, Tan, & Shatadal, 2001), ou plus détaillée, comme celle de O'Halloran *et al.* (1997) : facilité de première morsure, masticabilité globale, jutosité, tendreté globale.

Pour s'affranchir de la logistique des jurys, les scientifiques et industriels cherchent depuis des décennies à établir des méthodes instrumentales bien corrélées avec les méthodes sensorielles (Bourne, 1978; Bouton & Harris, 1972; Meullenet, Lyon, Carpenter, & Lyon,

¹ AMSA (1995). Research guidelines for cookery, sensory evaluation and instrumental tenderness measurement of fresh meats. Chicago, IL: American Meat Science Association in cooperation with the National Livestock and Meat Board.

1998; Szczesniak, 1963). Plusieurs revues de littérature analysent ces méthodes (Honikel, 1998; Lepetit & Culioli, 1994).

Honikel par exemple distingue trois types de mesures :

- Les méthodes d'étirement

Ces méthodes sont plutôt dédiées à l'analyse de la structure de l'aliment qu'à prédire son acceptabilité sensorielle. Il est reconnu que l'extension dans le sens parallèle aux fibres renseigne sur la contribution des fibres musculaires à la résistance mécanique, alors qu'une déformation perpendiculaire (appelée test d'adhésion) met plutôt à contribution les tissus conjonctifs. On peut chercher à mesurer le travail nécessaire pour obtenir la rupture de l'éprouvette, ou pour le déformer d'une distance donnée. Ce test peut être réalisé sur des petites éprouvettes de viande ou sur des fibres de tissus conjonctifs ou fibres musculaires isolées. Les éprouvettes peuvent être crues ou cuites, éventuellement traitées chimiquement ou thermiquement durant le test.

- La mesure du cisaillement au moyen d'une cellule de Warner Bratzler

L'échantillon est en général une bande de viande cuite d'une section de 100 mm² environ. La lame comporte un orifice à travers lequel on fait passer l'éprouvette. Une fois l'éprouvette introduite, la lame est poussée entre deux plaques fixes. L'échantillon sera cisailé et tranché par le déplacement vertical descendant de la lame. Le déplacement est perpendiculaire à l'axe longitudinal des fibres musculaires. La force de cisaillement mesurée est exprimée en kPa, ou plus simplement en kgf ou N. L'enregistrement de la force tout au long du déplacement permet de calculer une force maximum et une énergie totale. Un minimum de 8 à 10 répétitions s'avère nécessaire par nature d'échantillon ou de traitement.

- La pénétrométrie ou l'analyse de profil de texture (ou TPA).

Dans ces tests un outil cylindrique ou de section carrée ou rectangulaire vient appliquer une déformation de l'échantillon de viande, cru ou cuit. Le test est dit imitatif, car on s'appuie sur l'enregistrement des forces rencontrées au cours de deux déplacements successifs sur le même échantillon. Ainsi, on peut appréhender les conséquences du premier écrasement sur le comportement de l'échantillon au second déplacement, ce qui mime la mastication de l'aliment. La figure 5, tirée des travaux de Caine *et al.* (2003), représente un enregistrement typique de TPA.

Les grandeurs mesurées ou tirées par calcul sont très bien corrélées avec une série de descripteurs d'ordre sensoriel (Bourne, 1978) :

- « *hardness* » : force maximum de la première compression,
- « *cohesiveness* » : adimensionnel = aire du second pic sur celle du premier,
- « *springiness* » : adimensionnel = longueur 2/longueur 1,
- « *chewiness* » : = *hardness* x *cohesiveness* x *springiness*,
- « *resilience* » : en unité d'énergie = (Aire 1-Aire 2)/2.

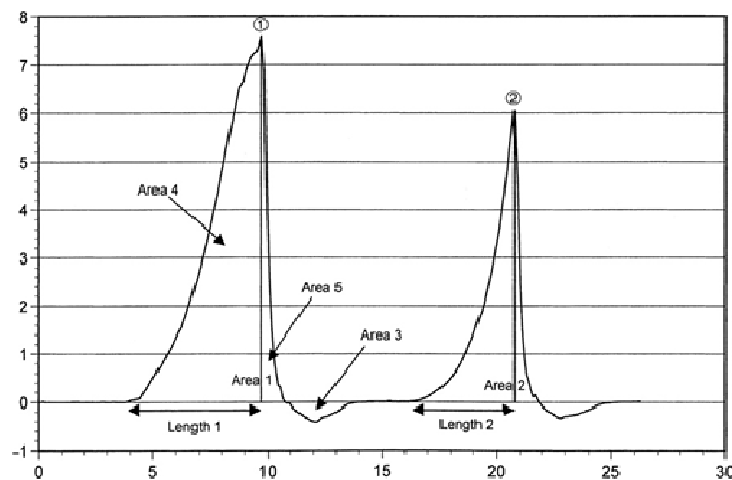


Figure 5 : Enregistrement typique en analyse de profil de texture (TPA).
Force mesurée en fonction du déplacement ou du temps (Caine *et al.* 2003).

Des travaux basés sur l'analyse de l'effet de techniques d'attendrissement et d'itinéraires de maturation sur des muscles plus ou moins collagéniques ont permis d'identifier les méthodes de mesure appropriées à la mise en évidence des contributions relatives des myofibres et des tissus conjonctifs à la dureté de la viande.

Il a été ainsi montré que (Bouton & Harris, 1972) :

- Les méthodes basées sur la mesure des forces d'adhésion (étirement perpendiculaire à l'axe des fibres) donnent des résultats concordant avec les mesures de compression (à 80% de la hauteur de l'échantillon), et rendent bien compte de la contribution des tissus conjonctifs à la dureté de la viande
- Les méthodes basées sur la mesure des forces d'étirement (dans l'axe des fibres) donnent des résultats concordant avec les mesures de forces de cisaillement (ex : au moyen d'une cellule de Warner-Bratzler), et rendent bien compte de la contribution des fibres musculaires à la dureté de la viande. Ces méthodes rendent bien compte de

différences entre échantillons pour ce qui est du niveau de contraction des fibres donc de la densité de fibres par unités de section de l'éprouvette de viande testée.

Selon Lepetit & Culioli (1994), la compression sur de la viande crue permet de mesurer, pour de faibles déplacements (< 40%) la contribution des fibres musculaires, car les tissus conjonctifs, ondulés, ne sont pas encore sous tension. Pour des déplacements plus importants, on mesurera alors la contribution des tissus conjonctifs. Les mesures des contraintes de cisaillement lors du déplacement d'un outil de type Warner Bratzler se feront plutôt sur viande cuite, et permettront de mettre en évidence les changements de propriétés mécaniques liées aux fibres musculaires.

1.2. LE MARINAGE

1.2.1. Définition, produits, fonctions

Le procédé de marinage consiste à mettre en contact un aliment avec diverses préparations alimentaires et aromatiques ou "marinades", traditionnellement à base de vin, vinaigre, jus ou pulpes de fruits ou d'extraits végétaux, de lait fermenté, de sel et d'huile (Bjorkroth, 2005; Oreskovich, Bechtel, McKeith, Novakofski, & Basgall, 1992).

Les aliments destinés au marinage sont surtout des viande ou poissons. De nombreuses études ont porté sur l'attendrissement de viandes collagéniques, en particulier le bœuf, au moyen d'acides organiques (Aktas, Aksu, & Kaya, 2003a; Berge et al., 2001; Burke & Monahan, 2003). Pour ce qui est de la volaille, il est courant de traiter industriellement la volaille par barattage ou injection au moyen de marinades à base de phosphates alcalins et de sel. Au Etats-Unis, selon Smith et Acton (2001) plus de 50% de la volaille subirait un marinage avant consommation. Le mélange alcalin présente l'avantage d'une relative neutralité gustative et d'un effet marqué sur la tendreté, la réduction des pertes à la cuisson et d'un effet positif sur la couleur (Yusop, O'Sullivan, Kerry, & Kerry, 2010). En Finlande, selon Bjorkroth (2005), plus de 80% des volailles seraient commercialisées à l'état mariné. Les marinades sont alors des sauces complexes et variées dont les effets sur le goût et l'apparence sont marqués. Elles sont habituellement constituées d'huile, d'eau, de sel, de sucre et d'acides (acétique et citrique) d'agents de texture (xanthane et gomme guar), antimicrobiens (sorbate et benzoate), épices et exhausteurs d'arôme. Leur pH est en général inférieur à 5.

Toutefois, l'utilisation de substances acides d'origine naturelle est plutôt associée à des préparations exotiques de la viande et du poisson, avant cuisson. D'une part ces substances

sont disponibles localement et à faible coût, d'autre part, les produits obtenus présentent une typicité identitaire marquée.

Les acides les plus couramment rencontrés dans les préparations sont l'acide citrique, l'acide acétique et l'acide lactique.

L'acide citrique, présent dans le citron, est souvent utilisé pour mariner le poulet (préparation « murgh tikka », Inde, par exemple), et pour mariner des salades de poissons et fruits de mer (salades du Pacifique et « ceviche » d'Amérique Latine).

L'acide acétique, présent dans le vinaigre, est à la base d'un ensemble de préparations appelées adobos, originaires d'Espagne (cf. figure 6). On les retrouve dans de nombreux pays (Toute l'Amérique Latine, les Philippines, les USA), où elles désignent à l'origine du poisson traité au vinaigre (de riz) et avec un mélange de sel et d'épices, paprika en particulier. Plus largement le poulet, le bœuf et le porc sont marinés avant cuisson pour l'attendrissement et l'aromatisation. Si du vinaigre est toujours ajouté dans la marinade, on peut également trouver du citron. Dans la préparation philippine, la sauce est portée à ébullition avec la viande dès son ajout, il n'y a donc pas de temps de repos préalable à la cuisson. En Europe du nord et autour de la Méditerranée, les filets de poisson sont souvent marinés au vinaigre (hareng pour les Rollmops des Pays Bas, filets de sardines et d'anchois du pourtour méditerranéen).

L'acide lactique est l'acide organique en jeu lors de la préparation du poulet « tandoori » indien. La viande est enduite de yaourt et d'épices plusieurs heures avant cuisson. Du citron est parfois ajouté à la préparation.

L'acide tartrique et l'acide lactique sont présents dans les marinades à base de vin. Ces marinades sont particulièrement destinées à attendrir les viandes dures (bœuf et gibiers).



Figure 6 : Poulet *adobo* des Philippines (source : www.wikipedia.org).

Les quatre fonctions principales imparties au marinage acide de produits carnés peuvent être selon les cas :

- L'aromatisation : les acides employés peuvent présenter un arôme et une saveur typiques, correspondant à une demande (cas de l'acide citrique et de l'acide acétique).
- L'attendrissement ou la texturation : dans la viande, c'est l'attendrissement qui est recherché, alors que dans le poisson, on recherche plutôt une « cuisson à froid » qui donnera de la texture à la chair marinée.
- La conservation : l'abaissement du pH en deçà de 4,5 permet une stabilisation de plusieurs semaines en froid positif (poisson). Pour ce qui est des viandes marinées, l'immersion en saumure acide ou l'enrobage avec des préparations épicées et épaisses comme le tandoori met la viande à l'abri des altérations microbiennes, à température ambiante pendant le temps de repos précédant la cuisson.
- L'amélioration de la rétention d'eau. Cette fonction regroupe plusieurs aspects liés à l'amélioration de la capacité de rétention d'eau des protéines. On peut souhaiter que la viande prenne de la masse durant l'opération de marinage, pour des raisons économiques et organoleptiques. La limitation des pertes à la cuisson et l'amélioration de la jutosité qu'on peut attendre du marinage acide entrent dans cette fonction.

1.2.2. Transferts de matières

Le marinage vise à l'imprégnation de l'aliment en un certain nombre d'ingrédients provenant d'une marinade. La figure 7 illustre les transferts de matières qui s'opèrent dans le cas simplifié d'une marinade par immersion dans une solution sel-acide.

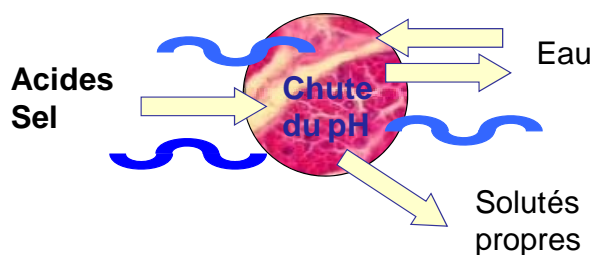


Figure 7 : Schéma des transferts en marinage.

La finalité principale est le transfert d'acide et de sel, et l'abaissement du pH interne.

Par ailleurs, s'opèrent inévitablement :

- Des transferts d'eau, du fait des gradients éventuels d'activités de l'eau et des espèces chimiques en solution entre la pièce de viande et la marinade.
- Une perte de solutés propres hydrosolubles de la matrice carnée, comme des peptides, des protéines, des matières minérales, du lactate (Gault, 1985).

Les tissus ayant perdu de leur intégrité du fait de la maturation et des manipulations et préparations qui s'opèrent (découpe, perforation, injection ou barattage éventuels), les voies de transfert sont variées et se superposent à des degrés qui dépendent de la perte d'intégrité.

La diffusion est vraisemblablement la voie majeure dans la mesure où il existe une interface perméable entre la pièce de viande soumise au marinage et la marinade. Les gradients d'activités des espèces en solution sont alors le moteur des transferts.

Daudin et Lebert (2008) ont mesuré le profil de pH dans un cylindre de bœuf en contact avec une solution acide à une de ses extrémités. Ils en ont déduit des diffusivités à 2 jours et à 6 jours d'immersion, respectivement de $2.10^{-11} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ et de $6.10^{-11} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$, bien inférieures à celles qui sont connues en milieu aqueux ($2.10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$), traduisant les interactions fortes des protons provenant de l'acide de marinage avec la matrice.

L'osmose est une des voies possibles, si on considère que la membrane sarcoplasmique conserve une relative intégrité, par exemple dans le cas de muscles entiers, toutefois, la porosité de cette membrane est certainement rendue significative par la maturation (Winger & Pope, 1981). Le phénomène d'osmose consiste en un transfert d'eau du compartiment le plus dilué (le tissu musculaire en général) vers le compartiment le plus concentré (la marinade). Les tissus animaux présentent après maturation une osmolarité comprise entre 0,5 et 0,6 osm kg^{-1} (Bonnet, Ouali, & Kopp, 1992).

Du côté des surfaces de coupe (dans le cas d'une pièce découpée), l'eau est retenue par des forces de capillarité dans les structures myofibrillaires et entre les fibres (Xiong & Werner Klinth, 2004), cette eau ayant les propriétés d'un gel. La marinade pourrait aussi pénétrer dans la viande du fait de forces capillaires, et par le gradient de pression exercé par les déformations internes de l'aliment (Schmidt, Carciofi, & Laurindo, 2008).

Les transferts mis en jeu dans la viande sont relativement mal représentés par des modèles de transferts uniquement Fickiens car ils ne prennent en compte explicitement ni les interactions entre flux (eau, protons, anions) ni la structure et la réactivité de la matrice protéique (Schmidt *et al.*, 2008).

1.2.3. Mise en contact.

L'injection et le barattage sont des alternatives industrielles à l'immersion. Les techniques de mise en contact les plus répandues sont les suivantes (Smith & Acton, 2001; Yusop, O'Sullivan, Kerry, & Kerry, 2012) :

- Le marinage par immersion statique (« *still marination* »): ce procédé est techniquement le plus simple. Les pièces de viande sont placées dans un conteneur en froid positif, et laissées en contact de la marinade pendant au moins 24 heures. Les avantages sont le prix de revient, la simplicité, la possibilité de traiter des petites quantités. Les inconvénients sont la manutention, les risques de contamination, la lenteur de l'imprégnation et l'hétérogénéité de traitement au sein d'un même lot de production. L'agitation est une option qui permet d'améliorer l'efficacité des transferts de matière, au détriment de l'intégrité des pièces traitées.
- Le barattage est la méthode la plus répandue de marinage industriel. Les barattes industrielles ont des capacités de 1 à 4 tonnes. Elles sont en général équipées pour le maintien au froid du mélange viande/marinade, et l'optimisation des transferts par rotation. Les transferts sont accrus à la fois par l'agitation et l'effet de massage apportés par la rotation. Cette action mécanique agit positivement sur la cohésion et la rétention d'eau par rupture partielle du complexe actomyosique et solubilisation de la myosine ainsi libérée.
- L'injection mécanique. C'est une méthode très répandue dans le saumurage et le marinage industriel des viandes et poissons. La saumure est introduite sous pression par un assemblage d'aiguilles introduites dans la masse des pièces à traiter, amenées par une bande transporteuse. Les cadences peuvent dépasser 5 tonnes/heure. Les perforations occasionnées par les aiguilles sont susceptibles d'accroître les pertes à la cuisson ou au repos, aussi l'injection peut-être suivie d'un barattage ou d'une immersion pour améliorer la rétention de marinade. L'injection est susceptible d'entraîner des germes microbiens de la surface vers la masse profonde initialement stérile de la viande.

1.2.4. Effet du marinage sur la matrice.

Pour cette partie, le tableau 7 (annexe) récapitule les articles analysés pour réaliser la synthèse qui suit. On pourra s'y référer pour obtenir plus de détails sur les conditions expérimentales spécifiques.

1.2.4.1. Effet de l'acide.

1.2.4.1.1. Effets sur la structure, la physicochimie.

La baisse du pH et le pouvoir tampon

Les acides généralement employés en marinage sont des acides organiques faibles.

Lors de la mise en contact de l'acide avec un homogénat de tissu carné, l'équilibre de dissociation de cet acide tel que connu en milieu aqueux se trouve modifié par les interactions qui vont s'établir avec les constituants de la viande (Cann & Coombs, 1971). On peut parler d'un pouvoir tampon de ces constituants, car le pH de l'homogénat de viande acidifiée sera bien supérieur à celui d'une solution aqueuse d'acide acétique de même concentration (Goli et al., 2007; Honikel, 2004; Puolanne & Kivikari, 2000; Svensson & Tornberg, 1998).

Si on prend le cas simple d'une solution d'un monoacide comme l'acide acétique, il est admis que, en tant qu'acide faible ($pK_a = 4,76$), lorsque l'acide acétique se trouve dans une solution de pH proche de son pK_a , cet acide se trouve à un taux de dissociation proche de 50%.

Du fait du fort pouvoir tampon de la viande, Goli *et al.* (2007) ont montré que dans un homogénat de viande acidifié par de l'acide acétique à 0,25 N, dans une gamme de pH habituel en marinage, soit entre 4,0 et 4,5, moins de 1% des protons amenés par l'acide se trouvent libres et expriment le pH (cf. figure 8)

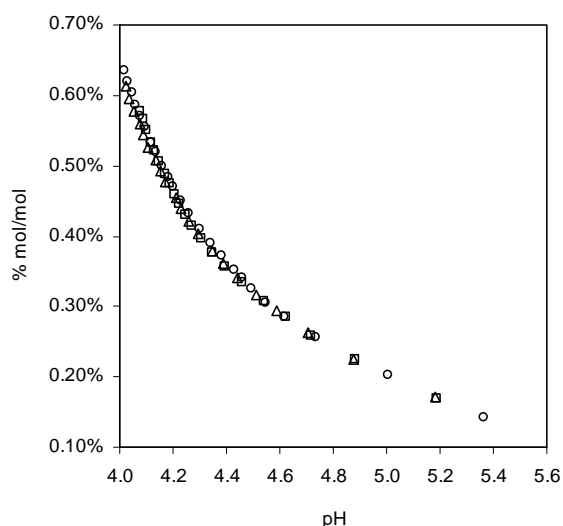


Figure 8 : Fraction molaire de protons libres par rapport aux protons liés. Acidification d'un homogénat de poitrine de dinde par de l'acide acétique 0,25 N (Goli *et al.*, 2007).

L'explication de ce pouvoir tampon est la forte affinité des constituants de la viande pour les protons amenés par l'acide de marinage. Ce pouvoir tampon est variable selon le pH, les

espèces qui sont impliquées dans le pouvoir tampon sont énumérées au paragraphe § 1.3.1. consacré au pH de la viande.

Dans la gamme des pH de marinage, un fort pouvoir tampon est observé, attribuable :

- à la présence du lactate accumulé par la glycolyse anaérobie, qui peut dépasser une concentration de l'ordre $0,1 \text{ mol kg}^{-1}$ dans certains muscles du bœuf et de la volaille (Hamm & Deatherage, 1960; Rao & Gault, 1989).
- aux groupements latéraux des acides aminés acides (aspartique et glutamique), dont le pK_a est de l'ordre de 4. Ces groupements latéraux sont chargés négativement au pH de la viande non traitée, et seront donc accepteurs de protons dans la zone de pH du marinage.

Le pouvoir tampon, β , peut être mesuré par acidification d'un homogénat par un acide fort, comme l'acide chlorhydrique.

Il s'exprime en moles d'ions H^+ par unité pH et par kg de viande selon l'équation :

$$\beta = \frac{\delta C_{HCl}}{\delta pH}$$

Avec : C_{HCl} la concentration d'HCl en moles par kg de viande dans le milieu réactionnel. (Puolanne & Kivikari, 2000).

La figure 9 représente le pouvoir tampon d'un homogénat de bœuf. Pour obtenir cette courbe, il a fallu également suivre l'évolution du pH lors d'ajouts d'une base forte pour se déplacer dans la zone des pH alcalins.

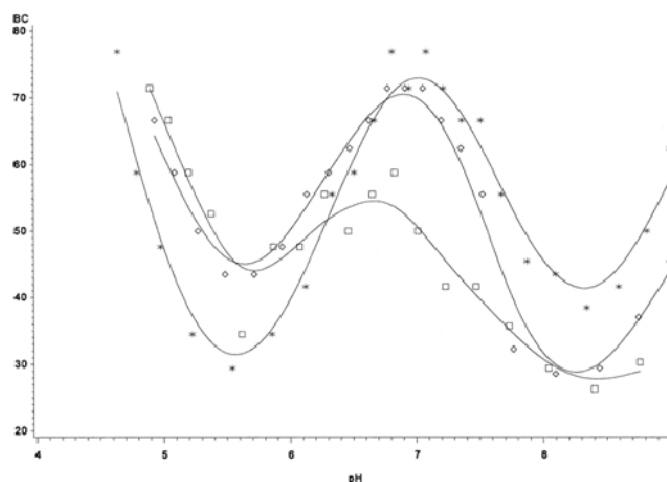


Figure 9 : Pouvoir tampon (BC, en mmol d'ions H^+ par unité pH et kg de viande) en fonction du pH, réalisé sur un homogénat de bœuf, pour plusieurs taux de dilution (Puolanne et Kivikari, 2000).

Plusieurs approches de prédiction du pH de muscles soumis à un traitement de marinage ont été proposées (Goli et al., 2007; Svensson & Tornberg, 1998). Ces études s'appuient sur la prise en compte du pouvoir tampon de la viande sur la plage de pH considérée, et sur la réalisation de bilans des espèces chimiques en présence à l'équilibre après ajout d'une quantité d'acide fort ou faible donnée, ou à l'issue d'une période d'immersion en solution acide. Dans ces approches simplificatrices, on considère que dans le domaine de pH du marinage, la matrice se comporte comme une base qui sera protonée par l'acide apporté.

D'autres méthodes de calcul du pH sont basées sur le nombre de groupements titrables présents dans l'unité réactionnelle ou sur des principes thermochimiques (Bendall, 1962; Cann & Coombs, 1971; Lebert & Daudin, 2009; Tanford, 1962). Ces méthodes sont plutôt appliquées à des protéines pures (acide polyglutamique, gélatine) ou à la réalisation des prédictions sur homogénat de muscles, et non pas de pièces en immersion.

Dénaturation et modifications de la structure

L'acidification est une des voies physico-chimiques de dénaturation des protéines (Putnam, 1953). La baisse de pH ne provoque pas en soi d'hydrolyse de liaisons peptidiques, mais des modifications des liaisons non covalentes au sein de la matrice protéique (liaisons hydrogènes, hydrophobes, liaisons salines).

Toutefois, une hydrolyse pourrait intervenir indirectement via des voies enzymatiques (cf. § 1.1.2), la baisse de pH favorisant l'activité des protéases endogènes (Berge et al., 2001; Ertbjerg et al., 1999; Han et al., 2009; Hopkins, Huff-Lonergan, & Werner Klinth, 2004; Hwang, Lin, & Chou, 2000; Lin, Chen, & Chou, 2000; Saunders, 1994). Les avis des différentes équipes se partagent entre la voie des enzymes du cytosol (calpaines) et celle des protéases acides des lysosomes (cathepsines). Ces mécanismes expliquent pour partie la désagrégation des tissus conjonctifs et des myofibrilles observée en marinage.

Un des changements majeur apporté par la baisse du pH est la modification de la charge électrique des protéines, qui se traduit par une augmentation de la charge positive nette (Cann & Coombs, 1971; Hamm et al., 1961). Plus le pH descendra en-deçà du pH_i des protéines musculaires (5,2), et plus les forces de répulsions électrostatiques entre chaînes croîtront, comme détaillé au paragraphe 1.1.3.

L'acidification provoque par ailleurs :

- une dépolymérisation et solubilisation des filaments épais de myosine, qui se traduit par un relâchement des structures de maintien transversal des fibres, comme les lignes M. Les disques Z, qui maintiennent l'actine sont fragmentés et affaiblis. Ce relâchement est en synergie avec l'augmentation des forces de répulsion électrostatiques pour favoriser l'hydratation. (Berge et al., 2001; Ke, Huang, Decker, & Hultin, 2009; Rao, Gault, & Kennedy, 1989a)
- Les tissus conjonctifs sont également affectés par la dénaturation. Par AED (Analyse enthalpique différentielle ou DSC en anglais), on montre qu'ils sont rendus plus thermo-labiles (Aktas, 2003; Horgan, Kurth, & Kuypers, 1991; Kijowski, 1993). Cela se traduit par une baisse de températures d'*onset* et de dénaturation de l'ordre de 10 à 20°C.

1.2.4.1.2. Répercussions sur les propriétés fonctionnelles

L'acidification au-dessous du pH_i des protéines myofibrillaires provoque un ensemble de modifications des propriétés fonctionnelles des tissus musculaires parmi lesquelles :

- Une augmentation de la tendreté, qui s'observe tant sur des pièces de viande, que sur des constituants isolés et testés au moyen de méthodes instrumentales (fibres de collagène, myofibres ou myofibrilles).
- Une augmentation de la masse par hydratation et gonflement. Le tableau 6 en annexe recense dans sa partie supérieure les travaux montrant les augmentations de masse les plus importantes obtenues par acidification. Celle-ci peut avoisiner un doublement de la masse initiale de la pièce de viande en 48 heures à 4°C pour des solutions d'acide acétique à 0,1 M). Le gonflement maximum de pièces de bœuf à l'équilibre est observé lorsque la viande est à pH 3,5 (Rao, Gault, & Kennedy, 1989b). Selon ces mêmes auteurs, les muscles à dominante de fibres rouges sont moins sujets à ce gonflement. Le collagène lui aussi gonflerait à des pH situés au-dessous de 5.
- Une augmentation de la capacité de rétention d'eau, sur viande crue, sans augmentation de l'eau relarguée lors de la cuisson.

Plusieurs auteurs ont montré la corrélation positive qui peut exister entre l'hydratation et l'ensemble des propriétés fonctionnelles énumérées ci-dessus. La tendreté, par exemple, bénéficie de l'effet de « dilution » de la charge fibreuse par unité de section liée au gonflement.

La dénaturation des protéines offre à l'eau un nombre accru de résidus latéraux polaires des protéines, propice à la rétention d'eau, qui compense largement la perte de protéines (sarcoplasmiques et myosine surtout), qui peut atteindre 30% au cours d'un marinage de longue durée.

1.2.4.2. Effet du sel

1.2.4.2.1. Effet du sel sur la structure, la physicochimie de la matrice.

L'augmentation de la force ionique, si elle est modérée (jusqu'à 1 à 1,5 M), provoque :

- Un renforcement de la charge nette négative des protéines (rappelons que le pH ultime de la viande est en général supérieur au pH_i des protéines myofibrillaires). L'effet qui en découle est un accroissement des forces de répulsions électrostatiques entre chaînes protéiques par excès de charges de même signe.
- Une solubilisation des protéines les plus solubles : sarcoplasmiques et une partie des myofibrillaires.

La solubilisation des protéines s'exerce de façon croissante avec l'augmentation de la force ionique. La myosine est dépolymérisée puis extraite du fait des forces de répulsions électrostatiques internes. Graiver *et al.* (2006) ont montré, sur du porc, que, pour des concentrations de NaCl dans la saumure de 10 à 70 g/l, on constate, pour des durées d'immersion longues un maximum d'extraction (30 à 35%). (cf. figure 10). Cette concentration correspond également au seuil au-delà duquel se produit le *salting out*, c'est-à-dire la déshydratation des protéines du fait de la forte affinité eau-sel.

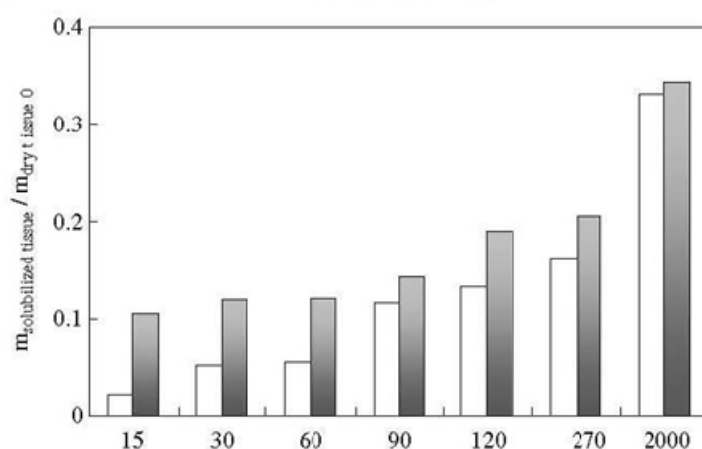


Figure 10 : Perte de matière (kg/kg de matière sèche initiale) au cours de l'immersion en fonction du temps d'immersion (en minutes) pour des teneurs en sel de la saumure de 30 et 70 g de NaCl/l (respectivement bâtonnet de gauche et de droite). (Graiver *et al.* 2006)

Sur tissus conjonctifs, il a été observé un renforcement des liaisons hydrogène lors de l'augmentation de la force ionique, que traduit une augmentation des températures *d'onset* et de dénaturation (T_0 et T_p) révélées par DSC.

Tout comme il a été rapporté pour l'effet du pH, on observe une perte de microstructure par microscopie électronique : disparition ou affaiblissement des bandes M, Z et A : dépolymérisation de la myosine, rupture partielle de l'actomyosine. Offer *et al.* (1989), en s'appuyant sur le principe que la seule capacité de rétention d'eau des protéines ne peut expliquer le degré d'hydratation observé, ont proposé un autre schéma explicatif de l'hydratation liée à la présence de sel. L'entrée d'eau induite par l'action du sel ne serait pas, selon eux, uniquement liée à des répulsions électrostatiques mais à l'augmentation d'entropie des filaments de myosine suite à la dépolymérisation, dans les zones où ils sont accrochés à l'actine via les têtes de myosine. Ces filaments se déploient dans l'espace disponible, augmentant leur entropie, ce qui génère une ouverture angulaire au niveau de la jonction tête-filament (de la myosine) et provoque une baisse de pression interne propice à une entrée d'eau accrue.

1.2.4.2.2. Effet du sel sur les propriétés fonctionnelles

Les protéines solubles dans l'eau (sarcoplasmiques) sont extraites à faible concentration en sel, tandis qu'en augmentant cette concentration, les protéines myofibrillaires comme la troponine, la tropomyosine, l' α -actinine, l'actine et la myosine sont extraites (Trout & Schmidt, 1984, cités par Richardson, & Jones, 1987). Ce sont les myofibrilles extractibles qui gonflent le plus. Un maximum de gonflement a lieu quand une partie de la bande A est extraite. La corrélation entre la solubilité de la myosine et le gonflement a été démontrée par Kotter & Fischer (1975), cités par Offer & Trinick (1983).

La capacité de rétention d'eau, elle, est accrue par l'augmentation de la teneur en sel dans les tissus. Graiver *et al.* (2006) ont montré sur porc qu'elle était croissante jusqu'à une teneur en sel voisine de 1,7 M, et qu'elle décroissait ensuite, pour être inférieure à celle de la viande non salée, à une teneur supérieure à 3 M (cf. figure 11). En parallèle avec l'augmentation de rétention d'eau, on observe un gonflement des tissus musculaires lors de l'immersion en solutions de NaCl, avec un maximum de 1,3 à 1,4 kg kg⁻¹ selon les auteurs, pour des teneurs en sel de 1 à 1,7 M. Le tableau 6 en annexe recense dans sa partie centrale les travaux montrant les augmentations de masse les plus importantes obtenues par effet du sel.

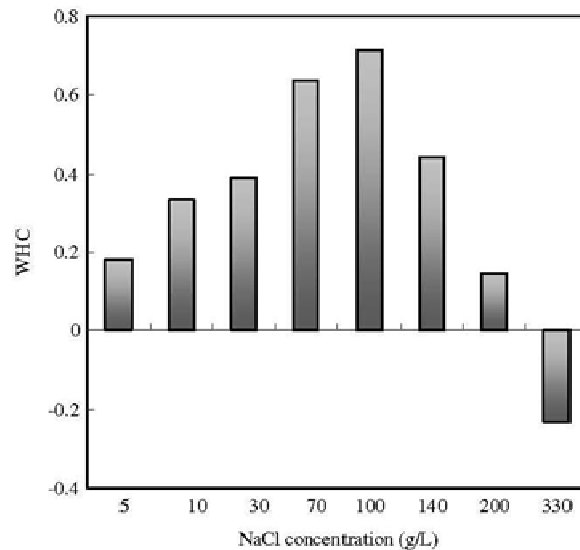


Figure 11 : Capacité de rétention d'eau (WHC, en kg/kg d'eau initiale) en fonction de la teneur en NaCl dans la saumure (Graiver *et al.*, 2006) à l'équilibre des transferts de matière.

On retrouve dans l'effet du sel à faible concentration une analogie avec les déterminants du gonflement en milieu acide :

- les anions du sel, en neutralisant une partie des charges cationiques des protéines, entraînent une augmentation de la charge nette négative (Hamm, 1986), augmentant ainsi les forces de répulsion entre myofibrilles,
- la solubilisation de la myosine entraîne un relâchement des contraintes transversales par dissociation de l'actomyosine (Offer & Trinick, 1983; Wilding, Hedges, & Lillford, 1986).

1.2.4.3. Effets du traitement combiné sel-acide.

1.2.4.3.1. Effets sur la structure et la physicochimie

Lorsque du sel et de l'acide sont ajoutés simultanément, la situation est très dépendante du pH que l'on atteint durant le traitement (Hamm, 1994) :

- Au-dessus du pH_i des protéines myofibrillaires, on a vu que les ions Cl^- exacerbent les répulsions électrostatiques liées à l'excès de charge nette négative des protéines.
- En-deçà du pH_i , la charge nette étant positive, les ions Cl^- diminueront les forces de répulsion positives entre chaînes en diminuant l'effet de l'excès de charges positives.

Par ailleurs, Aktas (2003) a montré que le collagène était renforcé et stabilisé par le renforcement des liaisons H pour des forces ioniques élevées ($> 0,7$). Cela se traduit par une augmentation des T_0 et T_p en DSC.

Une forte augmentation des volumes extracellulaires et une baisse du diamètre des fibres musculaires ont pu être observées par certains auteurs.

Sur viande de dinde, Richardson et Jones (1987) ont montré que l'extraction protéique n'est pas favorisée par la baisse de pH en présence de sel.

1.2.4.3.2. Effets sur les propriétés fonctionnelles

Les répercussions des modifications d'interactions électrostatiques entre chaînes protéiques sont illustrées par la figure 12. On constate qu'au-dessus du pH_i , l'effet de la présence de sel se traduit par une augmentation de la capacité de rétention d'eau, alors qu'au-dessous, la CRE baisse, pour remonter à nouveau au-dessous d'un pH de l'ordre de 4. On pourrait assimiler ce constat à une baisse du pH_i des protéines d'une unité pH environ. Il serait plus rigoureux de parler d'une baisse du pH de moindre CRE.

Toutefois, le graphique illustre bien le fait qu'en-deçà du pH_i des protéines myofibrillaires, quel que soit le pH, la capacité de rétention d'eau de la viande sera abaissée par rapport à celle d'une viande traitée en marinade sans sel.

Hamm a montré que la CRE, le gonflement et la tendreté sont positivement corrélés. Ainsi la figure 12 schématise bien la relation de ces trois variables d'importance majeure pour la qualité de la viande avec le pH. Le tableau 6 en annexe recense dans sa partie inférieure les travaux montrant les augmentations de masse les plus importantes obtenues par acidification. Sharedeh *et al.* (2010) ont observé une rétraction de l'ordre de 15% (m/m) de pièces de bœuf traitées en solution à très faible acidité (acide acétique 0,003 N) et teneur faible en sel (0,17 M), alors que d'autres auteurs ont montré des variations de masse positives pour des teneurs en acide et en sel supérieures (Ergezer & Gokze, 2011; Wenham & Locker, 1976).

La tendreté semble être améliorée par le traitement combiné sel-acide, bien que certains auteurs n'observent pas de modification significative, voire même observent un durcissement (Chang, Wang, Zhou, Xu, & Li, 2010), en acide citrique alors que la combinaison avec de l'acide lactique ou acétique a montré un attendrissement dans la même étude.

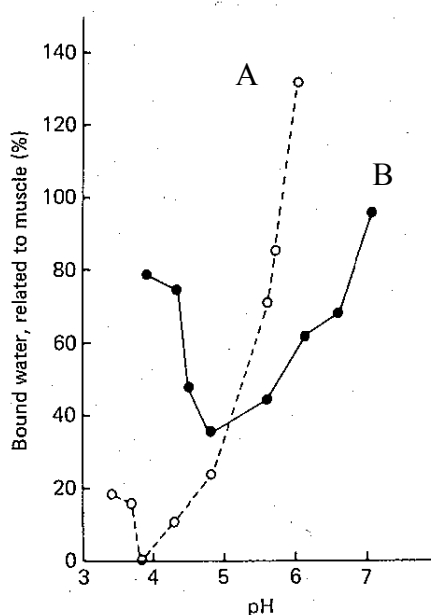


Figure 12 : Effet du pH sur la capacité de rétention d'eau de la viande de bœuf hachée, en kg d'eau pour 100 kg de viande, (A) salée à 2%, (B) non salée. (Hamm, 1986)

Cette synthèse montre que depuis une cinquantaine d'années, de nombreux travaux ont été dévolus à l'étude des modifications des propriétés des produits carnés soumis à des variations de pH ou de force ionique, suivies d'un traitement thermique éventuel. Des techniques variées (DSC, électrophorèse, microscopie en particulier) ont permis de mettre en évidence l'activation de voies enzymatiques qui expliquent l'hydrolyse des protéines de structure, et une dénaturation physico-chimique plus ou moins réversible de ces dernières. Ces changements se traduisent par des modifications de l'état de l'eau au sein de la matrice, des interactions eau-protéines, protéines-protéines, et par la solubilisation et la délocalisation d'une partie des protéines myofibrillaires. Des méthodes instrumentales et sensorielles permettent de rendre compte des répercussions de ces phénomènes sur les propriétés organoleptiques et fonctionnelles tant à l'échelle des fibres que de pièces de viande.

Il est toutefois étonnant que ces études aient en général concerné l'action du pH indépendamment de celui du sel, qui est pourtant l'ingrédient le plus fréquemment employé en marinage. Pourtant, des études anciennes (celles de R. Hamm dans les années 60) ont montré que des interactions existent entre ces deux actions, avec des répercussions en termes de propriétés de rétention d'eau. Par ailleurs, les études réalisées sur le marinage acide ne prennent pas en compte l'aspect dynamique des phénomènes qui se déroulent sous l'effet combinés des gradients d'activité des constituants et de la dénaturation des structures de la matrice protéique.

Dans le présent travail, nous nous sommes attachés à aborder la dynamique du marinage à partir d'expérimentations afin de répondre aux questions de recherche suivantes :

- Selon quels mécanismes les transferts de sel et d'acide en jeu lors du marinage influencent-ils les régimes d'hydratation de la matrice ?
- Comment le pH de la viande, donnée déterminante dans l'acquisition des propriétés de la matrice, s'établit-il au cours du marinage ?
- Quelle est la dynamique des modifications de propriétés fonctionnelles en fonction de l'évolution du pH et des effets isolés ou combinés du sel et de l'acide sur la matrice en marinage ?

La réponse à ces problématiques repose sur la présentation des résultats d'expérimentations rapportées sous la forme de 3 articles soumis aux revues *Journal of Food Engineering* et *Meat Science* :

- Mass transfer dynamics during the acidic marination of turkey meat.
- Evolution of pH during immersion of meat protein matrices in acidic marinades.
- Influence of sodium chloride and pH during acidic marination on water retention and mechanical properties of turkey breast meat.

PARTIE 2 : MATÉRIELS ET MÉTHODES

2.1. Produits carnés et marinades

La viande (poitrine de dinde, poitrine de poulet, haut de cuisse de poulet, pilon de poulet, filet de bœuf) ou les produits aquatiques (blanc de seiche, filet de limande) ont été achetés *post rigor* en grande distribution. Les pièces ont été conditionnées sous vide et congelées rapidement après achat en armoire de surgélation rapide et stockées moins de 2 mois à $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ jusqu'à utilisation. Le jour des essais, les produits congelés sont décongelés dans leur sachet sous eau du robinet courante durant 15 minutes, puis conservés à $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ jusqu'à l'utilisation. Les pièces destinées à être traitées sous forme d'homogénat sont broyées en moulinette de type domestique. Les cubes sont découpés à la main à l'aide d'un couteau tranchant à une dimension de 1,2 cm d'arrête.

Les marinades et solutions d'acidification sont préparées à partir d'acide acétique glacial (Merck, Allemagne), de NaCl ultra-pur, HCl standard 1 N (Acros Organics, Belgique) et eau désionisée. Le tableau 4 donne la composition moyenne des poitrines de dinde employées.

Tableau 4 : Composition moyenne de la poitrine de dinde employée.

| pH ¹ | Matière sèche ¹ | Protéines ² | Cendres ² | Collagène total ² | Lipides totaux ² | Lactate ² mol kg ⁻¹ | Cl ² mol kg ⁻¹ |
|-----------------|----------------------------|------------------------|----------------------|------------------------------|-----------------------------|--|---|
| 5,91 ± 0,13 | 26,6 ± 1,0 | 24,4 | 1,7 | 0,4 | 0,8 | 0,12 | 0,02 |

(¹) Analyses séparées sur 3 lots

(²) Valeur moyenne sur un mélange de 3 lots. Les valeurs sont en kg/100kg sauf pour le pH ou si précisé.

2.2. Dispositifs expérimentaux

2.2.1. Expérimentations en milieu « fermé »

Ces expérimentations visent à étudier les propriétés des produits carnés en termes de pouvoir de fixation de protons en fonction du pH. Sachant que les acides forts sont totalement dissociés en solution aqueuse, on les utilise pour (i) faire des bilans sur la répartition des protons apportés dans le milieu réactionnel entre la matrice carnée et le diluant (eau désionisée) et (ii) évaluer la résistance de l'homogénat de viande ou poisson au changement de pH provoqué par l'ajout d'acide fort en fonction du pH.

Caractérisation des matrices : de l'HCl (0,05 à 0,1 M) a été utilisé pour ces « titrations ». Des échantillons de 5 g de produit haché sont homogénéisés avec 60 ml d'eau désionisée (Ultra Turrax Ika T25, Germany). 20 ml de cet homogénat sont progressivement acidifiés au moyen

d'un titrateur automatique (Schott Titroline Easy), équipé d'une électrode de pH combinée Schott N52A, reliée à un PC pour enregistrement du pH via une interface RS232. (logiciel Titroline Chart v. 1.5.16, Schott, Allemagne). Les ajouts, de 0,25 ml sont espacés de 20 secondes.

Test de méthodes de prédiction de pH : dans un deuxième temps, de l'acide acétique 0,5 N, à été ajouté selon le même dispositif (ajouts de 0,1ml/20 s) à des homogénats de plusieurs matrices carnées. Cela a permis de constituer une base de référence de pH atteints en fonction de la matrice et de la concentration d'acide acétique dans le milieu réactionnel en vue de réaliser des essais de calcul de prédiction de pH.

Les titrations sont réalisées en triple à 20°C.

2.2.2. Expérimentations en milieu « ouvert »

Il s'agit du marinage à proprement parler. Les cubes sont immergés en bocaux de verre au ratio viande/solution 1/10 (m/m). Chaque traitement d'immersion est réalisé en triple (= 3 bocaux contenant une solution de même nature, pour un traitement de même durée) à température ambiante (20 ± 2 °C) sur un agitateur ping pong réglé sur 100 agitations.min⁻¹.

A la fin du traitement, les cubes sont égouttés, la solution est récupérée pour mesures éventuelles de pH, lactate et teneur en protéines. Les cubes sont superficiellement essuyés, puis pesés bocal par bocal pour les bilans matière (gain de masse au marinage). Ils sont ensuite conservés au froid (5°C) jusqu'au lendemain pour équilibrage avant analyses. Selon le cas, les analyses sont réalisées séparément pour chaque bocal, ou bien les contenus des 3 bocaux d'un même traitement sont mélangés puis broyés durant 30 secondes en moulinette. Des aliquots sont ensuite prélevés en quantités variables selon analyses.

Trois types d'expérimentations ont été réalisés :

- Un plan d'expériences en réseau de Doehlert Network pour la modélisation et la représentation des transferts de matière, pH, bilans massique au marinage, l'analyse de l'effet des variables indépendantes : durée de marinage, concentration en sel (C_s) en acide acétique de la marinade (C_{AH}). Les marinades contenaient du NaCl (0,01 à 1,07 molalité) et de l'acide acétique (0,0 à 1,1 molalité), les durées allaient de 16 à 223 min.
- Des cinétiques de marinage pour le calcul des densités de flux et vitesses de migration des constituants de la marinade à l'interface viande/solution d'immersion. Les marinades comprenaient de l'eau, du NaCl (0; 0,15; 0,5 and 1,5 molalité) et de l'acide

acétique (0,03; 0,25 and 1,03 molalité), les durées de marinage étaient de 15, 30, 60, 180 et 360 min.

- Pour l'article 3, (propriétés fonctionnelles) des marinages en bocaux avec arrêt au bout de 5 min, 20 min ou 360 min ont été réalisés en solution « ternaire » contenant de l'eau, du NaCl (0,25 M) et de l'acide acétique (0,25 M) ou en solution « binaire » ne comprenant que de l'eau et de l'acide acétique (0,25 M). Ces essais n'ont été réalisés que sur poitrine de dinde (3 lots distincts).

2.3. Caractérisations

2.3.1. Analyses chimiques

La matière sèche, W_{DM} , exprimée en kg kg^{-1} , est mesurée d'après la méthode AFNOR NF V04-401, par séchage à 104°C à pression atmosphérique jusqu'à poids constant. La teneur en eau, W_W , exprimée en kg kg^{-1} , est déduite de la matière sèche, corrigée le cas échéant de la masse d'acide acétique évaporée (W_{HA} , en kg kg^{-1}) si l'échantillon en contient :

$$W_W = 1 - W_{DM} - W_{HA} \quad (1)$$

Le pH des échantillons est mesuré au moyen d'une sonde de pH introduite directement dans l'échantillon haché. Chaque mesure est réalisée en triple.

La teneur en NaCl de l'échantillon, W_s , est déterminée au moyen d'un chloremètre (Corning MKII model 926, Sherwood Scientific Ltd., GB) après extraction en acide nitrique 0.3 N pendant 1 h. Elle est exprimée en mol kg^{-1} de viande ou kg pour 100 kg de viande. Dans les solutions d'immersion, cette teneur, C_s , est exprimée en mol l^{-1} (= M).

La teneur en lactate est déterminée soit par HPLC (colonne H^+ Biorad HPX87H, détecteur UV 210 nm) soit par simplification, sur viande non traitée, à partir d'une mesure d'acidité titrable. Dans tous les cas, une extraction à l'eau et une centrifugation à 20°C sont réalisées au préalable. Elle est exprimée en mol kg^{-1} de viande. Dans les solutions d'immersion, cette teneur, C_s , est exprimée en mol l^{-1} (= M). La teneur en acide L-lactique a été également déterminée au moyen d'un kit enzymatique (Enzytec, SCIC Diagnostics GmbH, Viernheim, Allemagne), sur extrait aqueux.

La teneur en acide acétique de la viande marinée est calculée à partir de l'acidité titrable (titration par NaOH du surnageant après extraction à l'eau). Elle est exprimée en mol kg^{-1} de

viande ou kg pour 100 kg de viande. Dans les solutions d'immersion, cette teneur, C_{HA} , est exprimée en mol l^{-1} (= M).

La teneur en protéines de la viande (w_p^i) a été déterminée à partir de la teneur en azote, selon la méthode de Kjeldahl (AFNOR NF V04-407) en utilisant un facteur de conversion de 6.25. Elle est exprimée en kg par kg ou pour 100 kg de viande. Le collagène total a été déterminé selon la norme AFNOR NF 04-415 après détermination colorimétrique de l'hydroxyproline et application d'un facteur de conversion de 8.

2.3.2. Mesure des propriétés fonctionnelles

Les propriétés fonctionnelles (perte à la cuisson, texture) ont été évaluées après cuisson, mode habituel de consommation des viandes marinées (Purchas, 2004). Les pertes à la cuisson (CL , en kg d'exsudat pour 100kg d'échantillon mariné) ont été calculées comme la perte de masse des cubes à la cuisson au bain-marie sous sachet plastique dans une eau à 80°C durant 2 min (temps nécessaire pour atteindre 80°C à cœur). Un bilan global (GMG en kg pour 100 kg d'échantillon soumis au marinage) de gain de matière consécutif à la succession du marinage et de la cuisson a été calculé de la façon suivante :

$$GMG = (1 + MG)(1 - CL) - 1 \quad (2)$$

Avec MG le gain de masse au marinage en kg pour 100 kg d'échantillon initial.

Des mesures de profil de texture par compression (TPA) ont été réalisées d'après une méthode décrite par Bourne (1978). Le principe de ce test est d'écraser à deux reprises un même échantillon à quelques secondes d'intervalle, en imitation au mouvement masticatoire. Des cubes de 1 cm^3 ont été découpés dans les échantillons (initialement de 1,2 cm d'arrêtes) après marinage, temps de repos (16 heures minimum) et cuisson. Les TPA ont été réalisés sur analyseur de texture TA-XT+ (Stable Micro Systems, GB) équipé d'une jauge de 50 kg à température ambiante ($20 \pm 2^\circ\text{C}$). Le module de compression est un plateau rectangulaire métallique de 50x38 mm. Les cubes sont placés sur le support du TA-XT+, les fibres perpendiculaires à l'axe de compression. Les conditions de travail sont les suivantes : vitesse de pré-test 3 mm/s, vitesse de test 1 mm/s et vitesse post-test 3 mm/s, ratio de compression 80%, temps d'attente de 5 s entre les deux compressions. La seconde compression se fait dans les mêmes conditions que la première.

Les propriétés mécaniques déduites des enregistrements contraintes/déplacement sont :

- *hardness* : force maximum de la première compression, (en g),
- *cohesiveness* : rapport du travail entre la seconde compression et la première, (adimensionnel),
- *springiness* : taux de récupération de la hauteur de l'échantillon entre les deux compressions, adimensionnel),
- *chewiness* : résistance globale à la mastication (en g) = *hardness* x *cohesiveness* x *springiness*),
- *resilience* : aptitude de la première compression à réduire le travail de seconde compression, en unité de travail : g.mm. Se calcule comme la moitié de la différence entre les aires sous les courbes des 2 compressions successives.

La variable *hardness* a également été exprimée en tenant compte de la variation de teneur en protéine (*hardness corr.*), liée aux déformations éventuelles et aux pertes par solubilisation dans le milieu d'immersion, selon l'équation suivante :

$$hardness\ corr. = hardness \cdot W_p^0 / W_p^i \quad (3)$$

Avec W_p^0 , la teneur en protéines du control (kg kg⁻¹) et W_p^i la teneur en protéines de l'échantillon mariné considéré (kg kg⁻¹).

Des mesures de contraintes lors du cisaillement ont été réalisées avec le TA-XT+ équipé d'une jauge de 5 kg et muni d'une cellule de Craft, un portoir de lames de type cutter (Stanley, Belgique). Les cubes d'échantillons à tester sont placés sur le support, les fibres perpendiculaires à l'axe de déplacement de la cellule. Les conditions expérimentales suivantes ont été mises en œuvre : vitesse de pré-test 3 mm/s, vitesse de test 0,83 mm/s et vitesse post-test 3 mm/s, ratio de compression 90%.

Les propriétés déduites des graphes de contraintes/déplacement sont : la force maximum enregistrée durant le déplacement (*Fmax*, en g), et le travail total (*Work*, aire totale sous la courbe d'enregistrement à la fin du déplacement, en g.mm). Le choix du ratio de compression a été fait à l'issue d'essais préliminaires qui ont montré un pouvoir discriminant élevé dans notre domaine expérimental.

Les propriétés mécaniques, pour chaque traitement, sont mesurées sur 30 cubes, qui représentent 10 cubes de 3 lots distincts de poitrine de dinde.

2.4. Calculs et expression des résultats

2.4.1. Détermination du pouvoir tampon en fonction du pH

Cette détermination repose sur l'exploitation des données d'acidification progressive (= « titration ») d'homogénats de tissus musculaires par HCl (cf. §2.2.1.). La méthode est inspirée des travaux de Puolanne & Kivikari (2000). Après chaque ajout d'HCl à l'homogénat, la concentration en HCl dans le milieu réactionnel, C_{HCl} , est calculée (mmol H^+ par kg de viande) et le pH est mesuré. Pour chacun des points obtenus, l'équation (4) est utilisée pour calculer l'augmentation de concentration d'HCl qui provoque la baisse du pH d'une unité. Ce calcul donne la valeur du pouvoir tampon, β , exprimée en mmol d' H^+ par unité pH et par kg d'échantillon (en base humide) :

$$\beta = \frac{\delta C_{HCl}}{\delta pH} \quad (4)$$

Pour estimer la valeur de β pour chaque valeur de pH, le gradient entre deux ajouts successifs d'HCl est calculé ($\Delta C_{HCl} / \Delta pH$). La courbe obtenue (β vs. pH) est traitée par lissage "cubic spline" après élimination des points atypiques éventuels par test de Grubbs (Statistica, Statsoft, USA).

A partir des courbes de titration HCl, nous avons pu également définir un « pouvoir tampon moyen », $\bar{\beta}$, dans le domaine de pH de 3,5 à 5,0, selon l'équation (5) :

$$\bar{\beta} = \frac{C_{HCl/3.5} - C_{HCl/5}}{1.5} \quad (5)$$

Avec $C_{HCl/3.5}$ ou $C_{HCl/5}$ les concentrations (en mmol H^+ par kg de viande) d'HCl dans le milieu réactionnel qui permettent d'atteindre respectivement pH 3,5 ou 5,0.

Le pouvoir tampon "maximum", β_{max} , est le pouvoir tampon de l'homogénat à une valeur de pH qui correspond au pK_a de l'acide lactique et des groupements carboxyliques des acides aspartique et glutamique des protéines myofibrillaires, qui exercent le pouvoir tampon le plus notable dans le domaine de pH du marinage (3 à 5) :

$$\beta_{max} = \left. \frac{\delta C_{HCl}}{\delta pH} \right|_{3.9} \quad (6)$$

2.4.2. Détermination de la quantité de protons liés $[H_b]$

Selon la méthode de Svensson & Tornberg (1998), la titration par un acide fort comme HCl permet d'accéder à la quantité de protons liée à la matrice carnée pour chaque pH atteint au cours de cette titration. Le calcul de l'équation (7) est basé sur le fait que l'acide fort est totalement dissocié en milieu aqueux :

$$[H_b] = [HCl] - 10^{-pH} \quad (7)$$

Avec $[H_b]$ la quantité de protons liés ($eq\ H^+ l^{-1}$), et $[HCl]$ la concentration en acide fort en moles par litre de milieu réactionnel (=homogénat acidifié).

Pour s'adapter au cas spécifique de l'acidification par immersion, nous avons adapté ce calcul à la viande entière, en exprimant la quantité de protons liés à la matière sèche de l'échantillon considéré (équation 8), $[H_b]_{dm}$, en $eq\ H^+ kg^{-1}$ de matière sèche de matrice :

$$[H_b]_{dm} = [H_b] \frac{V_w + V_m + V_{HA}}{V_m \cdot D_m} \quad (8)$$

Avec : V_w , V_m , V_{HA} les volumes respectifs, d'eau, de viande et d'acide dans le milieu réactionnel, en litres.

Dans le domaine de pH 3,5 à 5, l'évolution de $[H_b]_{dm}$ en fonction du pH est bien représentée par un polynôme du 2nd ordre :

$$[H_b]_{dm} = a + b\ pH + c\ pH^2 \quad (9)$$

2.4.3. Calcul du pH en milieu fermé

Le pH d'un homogénat de viande contenant une quantité donnée d'acide faible peut être tiré de l'expression de la constante de dissociation de l'acide en milieu aqueux, selon la méthode décrite par Goli *et al.* (2007):

$$[HA]_0 = \frac{[H_b]_e [H^+]_e}{K_a} + [H_b]_e \quad (10)$$

Et :

$$[HA]_0 = [H_b]_e [1 + 10^{(pK_a - pH)}] \quad (11)$$

Avec $[HA]_0$ la concentration totale d'acide faible présent dans l'homogénat.

L'indice "e" désigne la concentration ou teneur à l'équilibre des espèces considérées, exprimées en mol l^{-1} . $[H_b]$ et le pH étant liés par les équations (9) et (11), une seule valeur de pH correspond à une teneur en acide faible dans le milieu. Le solveur d'Excel est utilisé pour résoudre le système d'équations (9) et (11) pour chaque valeur de HA dans l'homogénat.

2.4.4. Calculs de pH en milieu ouvert.

Au temps t de marinage, la quantité de protons liés $[H_b]^{(t)}$ dépend de la matière sèche de l'échantillon $D_m^{(t)}$:

$$[H_b]^{(t)} = [H_b]_{dm} D_m^{(t)} \quad (12)$$

Elle est reliée au pH et à la concentration en acide faible dans le milieu réactionnel par l'équation 13 :

$$[HA]^{(t)} = [H_b]_{dm} D_m^{(t)} [1 + 10^{(pK_a - pH)}] \quad (13)$$

De la même façon qu'en milieu fermé, le solveur de Microsoft Excel est utilisé pour identifier les valeurs de pH qui permettent de satisfaire l'équation 13 pour toute valeur de teneur en acide acétique dans la viande marinée.

2.4.5. Évaluation des pertes de pouvoir tampon durant le marinage.

Une cinétique d'évolution de $[H_b]$ au cours de l'immersion de cubes de poitrine de dinde en eau désionisée a été réalisée. Après des durées d'immersion de 0,25; 0,5; 1; 3 et 6 h, des cubes ont été prélevés dans les bocaux pour réaliser une détermination de $[H_b]$ en fonction du pH selon la méthode décrite en § 2.4.2.

Ces titrations à l'HCl ont également permis d'établir le pouvoir tampon de la viande selon le pH dans le domaine 3,5 à 5. La cinétique de pertes de lactate a pu être suivie par dosage en HPLC.

2.4.6. Transferts de matière

Les transferts de matière sont calculés à partir des variations de masse et des teneurs ou concentrations mesurées dans les échantillons. Le gain de masse, ($MG^{(t)}$), le gain en eau, ($WG^{(t)}$), le gain en sel, ($SG^{(t)}$), et le gain en acide ($AG^{(t)}$), sont calculés comme suit :

$$MG^{(t)} = \frac{m^{(t)}}{m^{(0)}} - 1 \quad (14)$$

$$WG^{(t)} = W_w^{(t)} \frac{m^{(t)}}{m^{(0)}} - W_w^{(0)} \quad (15)$$

$$SG^{(t)} = W_s^{(t)} \frac{m^{(t)}}{m^{(0)}} - W_s^{(0)} \quad (16)$$

$$AG^{(t)} = W_{HA}^{(t)} \frac{m^{(t)}}{m^{(0)}} - W_{HA}^{(0)} \quad (17)$$

Avec $W_i^{(t)}$ la fraction massique du composant « i » au temps t, avec i = w (eau), s (NaCl) ou HA (acide acétique). Cette fraction est en kg kg⁻¹. $m^{(t)}$ en kg, est la masse de viande au temps t. t=0 est le temps initial.

Les vitesses de migration de l'eau, l'acide, et le sel au temps t, notés respectivement $v_w^{(t)}$, $v_{HA}^{(t)}$ et $v_s^{(t)}$ sont exprimées en m s⁻¹. Leur moyenne sur la surface totale d'échange viande/solution d'immersion a été calculée au moyen de la fonction « direct derivative cubic smoothing spline » (Matlab[®] Version 5.2, The Mathworks Inc., USA) à partir des valeurs de $WG^{(t)}$, $AG^{(t)}$ et $SG^{(t)}$ selon les formules suivantes :

$$v_w^{(t)} = \frac{m^{(0)}}{\rho_w^{sol} A^{(t)}} \left(\frac{dWG^{(t)}}{dt} \right) \quad (18)$$

$$v_{HA}^{(t)} = \frac{m^{(0)}}{\rho_{HA}^{sol} A^{(t)}} \left(\frac{dAG^{(t)}}{dt} \right) \quad (19)$$

$$v_s^{(t)} = \frac{m^{(0)}}{\rho_s^{sol} A^{(t)}} \left(\frac{dSG^{(t)}}{dt} \right) \quad (20)$$

Avec ρ_i^{sol} , concentration massique du constituant “i” dans la marinade, (kg de i par m³ de marinade).

La surface d'échange ($A^{(t)}$) a été calculée à partir du gain de masse et du volume initial du cube ($V^{(0)}$) comme suit :

$$A^{(t)} = 6 \left[V^{(0)} (1 + MG^{(t)}) \right]^{2/3} \quad (21)$$

On a fait l'hypothèse que le cube maintenait sa forme cubique au cours des déformations éventuelles liées au traitement, et que gonflement ou retrait étaient isotropes. Cette hypothèse s'appuie sur les travaux de May and Perré (2002) pour le matériaux de faible porosité initiale. Par ailleurs, la densité de la viande était considérée comme constante.

Par bilan matière, nous avons calculé la perte globale de substances autres que acide, NaCl et eau, *DML* (Dry Matter loss) :

$$DML = -(MG - WG - SG - AG) \quad (22)$$

La matière sèche hors NaCl a été appelée D_m , et obtenue comme suit :

$$D_m = 1 - W_W - W_S \quad (23)$$

2.5. Méthodes statistiques

Un plan d'expériences fractionnaire en réseau de Doehlert (Doehlert, 1970) a été employé pour déterminer l'effet des principaux facteurs au cours du marinage sur les transferts de matière et le pH. La corrélation entre ces facteurs et les variables réponse repose sur des modèles quadratiques du type :

$$Y = a_0 + \sum_i a_i X_i + \sum_i a_{ii} X_i^2 + \sum_{i,j} a_{ij} X_i X_j \quad (24)$$

Y représente toute réponse (*MG*, *WG*, *AG* *SG* ou *pH*). X_1 est le logarithme népérien de la concentration de la marinade en NaCl, $\ln(C_s)$; X_2 la concentration en acide acétique, C_{HA} , et X_3 le logarithme du temps de marinage, $\ln(t)$. a_0 est la constante du modèle, a_i le coefficient de régression linéaire de X_i , a_{ii} le coefficient de régression quadratique du facteur X_i , et a_{ij} le coefficient de régression de l'interaction entre X_i et X_j . Pour les facteurs *temps* et *teneur en*

sel, une transformation logarithmique a été employée pour obtenir une meilleure description du domaine des faibles valeurs de ces variables. Le plan de Doehlert a permis de fixer 7 niveaux de molalités de NaCl et 5 molalités d'acide acétique dans la marinade. Les durées de traitements ont été fixées à 16, 60 et 223 min. Par construction, ce plan a consisté en 13 combinaisons différentes des niveaux des facteurs. Ont été rajoutées à cela 5 répétitions du point central et une répétition en deux autres points du domaine. Les expérimentations ont été réalisées en ordre aléatoire. Le logiciel Statistica 9.1 (StatSoft® Inc, Oklahoma 74104, USA) a été employé pour le calcul des coefficients de régression. La significativité statistique des coefficients des modèles obtenus (1 modèle par réponse) a été testée par analyse de variance. Pour tous les autres essais, l'effet des variables étudiées a été testé par analyse de variance et les moyennes comparées au moyen de tests post-hoc de Tuckey ou de Duncan, au risque $\alpha < 0.05$. Pour chaque analyse de variance, les vérifications suivantes ont été effectuées : homogénéité des variances par statistiques de Hartley (F-max), Cochran (C) and Bartlett (test de *Chi-deux*), normalité de la distribution des résidus (droite de Henry), et similarité d'étalement des résidus bruts pour chaque valeur moyenne estimée.

Dans la partie des travaux consacrée à la prédiction du pH au cours de l'immersion de cubes de viande, une analyse de covariance a été mise en œuvre. Elle a permis d'évaluer les effets du temps d'immersion (prédicteur catégoriel) sur l'erreur de calcul de pH (variable dépendante) en faisant abstraction des variabilités de pH de la viande (= covariante ou prédicteur continu) au sein de groupes de même durée de traitement, issus de marinades d'acidités différentes. Le programme d'analyse de gradient homogène de covariance de Statistica a été employé pour vérifier l'absence d'interaction entre la covariante et la variable indépendante (temps d'immersion).

PARTIE 3 : RÉSULTATS

3.1. Dynamique des transferts de matières

3.1.1. Introduction et synthèse des résultats marquants

Dans cette première série d'expérimentations, nous avons voulu appréhender l'effet des conditions de marinage sel/acide sur la dynamique des transferts de matière et en déduire les mécanismes qui régissent les déformations de la matrice.

Des cubes de poitrine de dinde (1cm^3) ont été soumis à un marinage en solutions d'acide acétique ($0,0\text{--}1,0\text{ mol kg}^{-1}$) et de sel ($0,0\text{--}1,5\text{ mol kg}^{-1}$).

Les transferts d'eau et de solutés ont été suivis en cours de marinage par des prélèvements de cubes. Les résultats proviennent de deux séries de travaux :

- Un plan d'expériences en réseau de Doehlert, destiné à étudier le poids respectif des variables de composition de la solution d'immersion (teneur en sel, C_s et teneur en acide acétique, C_{HA}) et l'effet du temps (0 à 4 heures) sur les transferts de matière et le pH des cubes.
- Des cinétiques plus fines de suivi d'évolution sur 6 heures des caractéristiques de la viande marinée pour approcher les vitesses et flux d'eau et de solutés.

De forts rendements massiques ($\text{Mass Gain} > 0,3\text{ kg kg}^{-1}$), sont constatés pour une teneur en sel en solution inférieure à 0,2 à 0,3 M. La teneur en sel n'est alors pas suffisante pour s'opposer à l'effet hydratant lié à l'acidification. Dans le cas des marinades acides peu concentrées en sel, les densités de flux de solutés sont importantes dès le début de l'immersion, avec des vitesses de transfert des solutés supérieures à celles de l'eau. Ce phénomène peut s'expliquer par la superposition de phénomènes de diffusion et de transport de matière sous l'effet d'une chute de pression interne.

Dans un domaine intermédiaire de teneur en NaCl (0,3 à 0,5 M), en présence d'acide, un régime de gonflement succède à une première phase de réduction du volume de la matrice. Pour des concentrations en sel plus importantes, on constate que les vitesses et le sens de migration des solutés sont comparables à ceux observés en solutions diluées en sel, malgré l'inversion du sens de migration de l'eau, qui traduit un régime de déshydratation quelque soit la teneur en acide de la solution.

Ces résultats ne sont pas contradictoires avec les observations anciennes de Hamm *et al.* (1961) selon lesquelles, lorsque le pH de la viande descend en-deçà du pH_i , le sel présent

s'oppose à l'hydratation en réduisant les forces de répulsion électrostatique entre charges cationiques excédentaires latérales des protéines du système myofibrillaire.

Un tout autre aspect abordé dans ce travail a été de comparer le pH de la viande à l'issue de l'immersion dans diverses conditions de durées et de nature de solution, avec le pH calculé en tenant compte du pouvoir tampon de la viande en milieu fermé (principe détaillé dans Goli *et al.*, 2007). Il s'est avéré que la vraisemblable baisse du pouvoir tampon de la viande au cours du trempage, liée à la fuite de protéines, dipeptides, lactates pourrait être une explication aux faibles pH atteints lors de l'immersion en comparaison avec les données calculées. Cet écart de pH peut atteindre 1 unité pH au terme de 6 heures de marinage. Cette hypothèse, à confirmer par des études ultérieures, est corroborée par la perte importante de constituants de la viande mise en évidence par bilan matière.

Il serait intéressant par ailleurs de corrélérer les changements de composition et de caractéristiques de la viande avec l'évolution de propriétés fonctionnelles comme la rétention d'eau, les pertes à la cuisson ou la tendreté, car ces propriétés sont en général reconnues comme associées au gonflement qui accompagne un traitement acide ou salin.

Les points saillants de cette première partie expérimentale sont les suivants :

- Nous avons suivi l'évolution de cubes de poitrine de dinde soumis à un marinage eau-sel-acide durant 6 heures.
- Les transferts de matière nous ont permis d'identifier un seuil de teneur en sel (0,3 M) qui constitue une inversion du sens de migration de l'eau en milieu acide.
- En-deçà, on est en régime d'hydratation. L'acide a un effet positif sur le gain en eau. L'imprégnation en sel et acide se fait par diffusion superposée à une infiltration de solution. Au-delà, on est en régime de déshydratation. L'imprégnation en sel et acide se fait par diffusion uniquement.
- Le moteur des mouvements de solution pourrait être une différence de pression entre l'intérieur de la viande et la solution.
- Pour des teneurs en sel intermédiaires, une première phase de rétraction pourrait être suivie d'une hydratation ultérieure (pour des durées supérieures à 4 heures).
- La fuite importante de constituants de la viande en cours d'immersion se traduit par une baisse particulièrement rapide du pH.

3.1.2. Texte de l'article publié dans Journal of Food Engineering : Mass transfer dynamics during the acidic marination of turkey meat.



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Food Engineering

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jfoodeng

Mass transfer dynamics during the acidic marination of turkey meat

T. Goli^{a,*}, P. Bohuon^b, J. Ricci^a, G. Trystram^c, A. Collignan^b^a CIRAD, UMR QualiSud, Food Process Engineering TA B-95/16, 73, rue JF Breton 34398 Montpellier cedex 5, France^b Montpellier SupAgro, UMR QualiSud, Food Process Engineering Research Unit, 1101 avenue Agropolis, CS 24501, 34093 Montpellier cedex 5, France^c AgroParisTech, UMR 1145 Génial, 1 Av. des Olympiades, 91744 Massy cedex, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 22 July 2010

Received in revised form 4 October 2010

Accepted 8 December 2010

Available online 17 December 2010

Keywords:

Marination

Acetic acid

Salt

Mass transfer

Turkey meat

ABSTRACT

The mass transfers of water, acid and NaCl in turkey meat cubes (initial volume 1 cm³ during marination) were evaluated at various molalities of acetic acid (0.0–1.0) and NaCl (0.0–1.5). An experimental design was drawn up, associated with an estimate of the velocities of each component by means of kinetic monitoring. High mass yields (mass gain >0.3 kg kg⁻¹), obtained for the marinades most dilute in acid, were found only in the absence of NaCl. The presence of NaCl had a negative effect on mass yield, counterbalanced by the positive effect of acetic acid. In the case of acidic marinades with low salt concentration, high solute flux densities were observed upon the start of immersion, as well as solute transfer velocities greater than those in water. This phenomenon may be explained by the superimposition of material diffusion and transport phenomena caused by a fall in internal filtration pressure due to expansion of the protein matrix. The fall in the buffering capacity of the meat in the course of soaking, related to the leakage of proteins, dipeptides and lactates, may explain the low pH values obtained during immersion in comparison with theoretical data.

© 2010 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

The marination process consists of soaking a food in various foodstuffs and flavourings, or “marinades”, traditionally based on wine, vinegar, fruit juices or pulps or plant extracts, fermented milk, salt and oil (Bjorkroth, 2005; Oreskovich et al., 1992). In industry, marinades are based on weak acids (acetic, lactic, citric acid...), generally supplemented with NaCl (Yusop et al., 2010). The most required functions of marination are the extension of shelf life, and the improvement of the microbiological culinary and technological quality (jutosity, taste, tenderness, water retention and mass yield). Meat immersion in acidic marinades causes on the one hand, along with a reduction in pH, transfer of marinade solutes to the food—salt ions, acid—and on the other hand leakage of the meat components such as ions and molecules (mainly lactate, proteic and non proteic nitrogen compounds) (Gault, 1985).

The transfers are caused by driving forces which supplement or oppose each other: on the one hand the concentration gradient causes transport phenomena within the meat (Hamm et al., 1961); on the other hand, the marinade transfer into the meat muscle could be caused by capillary forces, and by the pressure gradient exerted by internal deformations of the food (Schmidt et al., 2008). The intensity of these transfers also depends on the

porosity and physiological condition of the membranes (Winger and Pope, 1981). Myofibrillar proteins, solubilised to a large degree under the effect of pH and salinity changes, and the effect of post-mortem enzyme activities, are strongly hydrated (Munasinghe and Sakai, 2004). The transfers active in the meat are relatively poorly represented by solely Fickian models, as they do not explicitly take into account either interactions between fluxes (water, protons, anions) or the structure and reactivity of the protein matrix (Schmidt et al., 2008).

Acid transport results in proton fixation on acceptor sites of many molecules (Honikel, 2004). The increase in net positive charge of the protein side groups by means of the pH falling below the isoelectric pH of the myofibrillar proteins (approx. 5.5 unit), causes a fall in electrostatic attraction forces between adjacent protein chains. This repulsion, which is manifested by increased myofibril diameter, combined with weakening of connective tissues which are hydrated, causes marinade infiltration into the newly created intracellular and extracellular spaces. The maximum swelling observed may double the volume on cuts of beef at pH 3.5 for immersion time of 24 h at 4 °C (Gault, 1985).

Below the isoelectric pH, the presence of salt ions such as chlorides reduces the positive charge of the proteins. Their degree of hydration is therefore less than that observed in the absence of salt, by means of a fall in electrostatic repulsive forces (Hamm et al., 1961). However, it is generally supposed that for pH of between three and nine, and for moderate NaCl contents (less than 1–3 M, according to the authors), protein hydration and subsequent swelling are associated with pH moving away from

* Corresponding author. Address: CIRAD, UMR QualiSud, 73, rue Jean-François Breton, TA 95/B15, 34398 Montpellier cedex 5, France, Tel.: +33 467 61 5716; fax: +33 467 61 4449.

E-mail address: thierry.goli@cirad.fr (T. Goli).

Nomenclature

| | | | |
|-------------------|--|------------|--|
| $A^{(t)}$ | Exchange surface area of cube at t time of immersion [m^2] | $SG^{(t)}$ | Salt gain of meat at t time of immersion [$\text{kg}/100 \text{ kg}$ of non treated sample] |
| $AG^{(t)}$ | Acetic acid gain of meat at t time [$\text{kg}/100 \text{ kg}$ of non treated sample] | V_{HA}^t | Velocity of acetic acid at the interface meat/marinade [m s^{-1}] |
| C_{HA} | Acetic acid molality in the marinade [mol/kg of water] | V_S^t | Velocity of NaCl at the interface meat/marinade [m s^{-1}] |
| C_S | NaCl molality in the marinade [mol/kg of water] | V_W^t | Velocity of water at the interface meat/marinade [m s^{-1}] |
| $m^{(0)}$ | Mass of meat sample at initial time [kg] | $V^{(0)}$ | Initial meat cube volume [m^3] |
| $m^{(t)}$ | Mass of meat sample at t time [kg] | W_{DM} | Dry matter content of meat [kg/kg of meat] |
| $MG^{(t)}$ | Mass gain of meat at t time of immersion [$\text{kg}/100 \text{ kg}$ of non treated sample] | W_{HA} | Acid content of meat [kg/kg of meat] |
| ρ_{HA}^{sol} | Mass concentration of acetic acid in the marinade [kg m^{-3}] | W_S | NaCl content of meat [kg/kg of meat] |
| ρ_S^{sol} | Mass concentration of NaCl in the marinade [kg m^{-3}] | W_W | Water content of meat [kg/kg of meat] |
| ρ_W^{sol} | Mass concentration of water in the marinade [kg m^{-3}] | $WG^{(t)}$ | Salt gain at t time of immersion [$\text{kg}/100 \text{ kg}$ of non treated sample] |

the isoelectric pH, at which point the attraction forces between proteins are the strongest (Hamm et al., 1961; Offer et al., 1989).

The lack of knowledge on the transfer dynamics and the reactivity of substances with buffering capacity makes it difficult to predict changes in meat pH, composition and quality during marination, although there have been attempts to understand them on homogenate, pure proteins or under marinade volume limiting conditions (Goli et al., 2007; Svensson and Tornberg, 1998). In the special case of immersion in marinades with wide ranges of combined NaCl and acid contents, there is little data on mass variations and regimes of water and solute transfer.

The objective of this work was to identify the material transfer mechanisms during immersion of a meat protein matrix in acidic aqueous marinades, in a wide domain of ionic strengths. Turkey breast cubes (*Pectoralis major*) were treated by immersion in ternary marinades of water, acetic acid and NaCl for periods of up to 6 h. Special attention was paid to the impact of the transfers on changes in the meat composition and volume changes.

2. Materials and methods

2.1. Turkey meat and marinades

Postrigor turkey breast cuts (*P. major*) were purchased from local butcher. They were cut into $\approx 0.20 \text{ kg}$ units, vacuum packed and immediately quickly deep-frozen in an air-blast vertical freezer (Facis, France) and stored for less than 2 months at -18°C until use. The frozen meat cuts were thawed overnight at $+4^\circ\text{C}$ before use. In order to facilitate meat slicing, the cuts were superficially hardened in an air-blast freezer by exposure to a -50°C air flow for 2 min. The possible mass transfers and structural changes induced by this freezing and thawing were neglected. The meat cuts were sliced transversally into strips 0.01 m thick using a ham slicer. From these strips, cubes measuring 0.01 m on each side were manually cut for the experiments. The marinades were prepared from acetic acid 100% (Merck, Germany), ultra-pure sodium chloride (Acros Organics, Belgium) and deionized water.

2.2. Experimental setup and methods

Batches of 20 meat cubes (about 0.020 kg) were immersed in 0.5 l glass jars filled with 0.3 l of marinade. Each immersion batch (=jar) was carried out in triplicate at ambient temperature ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) on an oscillating agitator (Heidolph Promax 2020, Germany) set to 16.7 rad s^{-1} . Each group of three similar jars corresponds to one particular combination of time \times acetic acid

molality (C_{HA}) \times sodium chloride (C_S) molality. After treatment, the cubes were removed from the marinade, gently surface dried with paper towels (5 s) to remove excess surface liquid, and then weighed jar by jar for mass variation calculation. To allow the cubes to reach equilibrium after treatment, they were left to rest at 5°C for a night before being analysed. Before analyses, the cubes of the three similar jars were minced 30 s together (Domestic cutter, Moulinex France). From this mixture, samples of 2.5, 5 and 2.5 g were taken respectively for titratable acidity, moisture content and salt content determination. These analyses were done in triplicate. Acetic acid (HA) and sodium chloride concentrations in the marinades were expressed in aqueous molality (mol kg^{-1}). In the meat cubes, acid and salt contents were expressed in kg per kg or mole per kg of meat (kg kg^{-1} or mol kg^{-1} in the text). Two types of experiment were followed: (i) a Doehlert Network design for modeling and graphic representation of the various responses studied and statistical analysis of the influence of the factors (time, C_S and C_{HA}) and (ii) Kinetics for calculation of flux densities and velocities of water and solutes. The Doehlert uniform network three factors experimental design was carried out in marinades containing water, NaCl (molalities 0.01–1.07) and acetic acid (molalities 0–1.1). The soaking durations were from 16 to 223 min. Kinetics were carried out in marinades comprising water, NaCl (molalities: 0; 0.15; 0.5 and 1.5) and acetic acid (molalities: 0.03; 0.25 and 1.03) with analyses carried out after 15, 30, 60, 180 and 360 min marination times. These immersions were done in the same experimental setup as for the Doehlert plan (ratio meat/marinade, each combination of factors in triplicate). The responses measured were mass, pH and composition (water, acid and salt content), from which we deduced the gains as a function of time (Eq. (2)–(5)). In the case of kinetics, by calculation from the analyses, the instantaneous transfer fluxes and velocities of water and solutes were deduced from the gains (Eq. (6)–(8)). Using the material balance, we deduced the overall loss of materials other than NaCl and acetic acid.

2.3. Chemical analyses

The pH was measured directly in the meat homogenates with a pH-meter (WTW-Inolab pH Level two) equipped with a solid electrode (WTW-Sentix-Sp). The acid content was determined by NaOH titration of the supernatant obtained after centrifugation (Beckman GS-6R 4100 g, 10 min, 20°C) of an homogenate of minced meat cubes + water. Dry matter, W_{DM} , was measured according to the AFNOR standard method (AFNOR, 1968), after drying at 104°C at atmospheric pressure until stable weight. Water content, W_W , was deduced by subtracting the acetic acid

content of meat from W_{DM} (since acetic acid is volatilized during oven drying):

$$W_W = 1 - W_{DM} - W_{HA} \quad (1)$$

Sodium chloride content, W_s , was determined by measuring the chloride ion concentration with a chloride analyser (Corning MKII model 926, Sherwood Scientific Ltd, UK) after extraction in 0.3 N nitric acid. All contents (W_i) are expressed in kg kg^{-1} on a wet basis.

2.4. Mass balances and mass flux calculations

Mass transfers were expressed in kg kg^{-1} of initial matter. Mass gain ($MG^{(t)}$), water gain ($WG^{(t)}$), salt gain ($SG^{(t)}$) and acid gain ($AG^{(t)}$) were calculated as follows:

$$MG^{(t)} = \frac{m^{(t)}}{m^{(0)}} - 1 \quad (2)$$

$$WG^{(t)} = W_w^{(t)} \frac{m^{(t)}}{m^{(0)}} - W_w^{(0)} \quad (3)$$

$$SG^{(t)} = W_s^{(t)} \frac{m^{(t)}}{m^{(0)}} - W_s^{(0)} \quad (4)$$

$$AG^{(t)} = W_{HA}^{(t)} \frac{m^{(t)}}{m^{(0)}} - W_{HA}^{(0)} \quad (5)$$

where $W_i^{(t)}$ is the mass fraction at time t of component “i”, where $i = w$ (water), s (NaCl), HA (acid), $m^{(t)}$, expressed in kg, is the meat mass at time t . $t = 0$ refers to the initial time. Loss of other soluble molecules was estimated by subtracting WG , SG and AG from MG . The velocities of water, acid and salt at time t , denoted $v_w^{(t)}$, $v_{HA}^{(t)}$ and $v_s^{(t)}$ respectively, were expressed in m s^{-1} . They were averaged over the entire exchange surface with respect to the meat/marinade interface from a direct derivative cubic smoothing spline function (Matlab® Version 5.2, The Mathworks Inc., USA) from $WG^{(t)}$, $AG^{(t)}$ and $SG^{(t)}$ respectively:

$$v_w^{(t)} = \frac{m^{(0)}}{\rho_w^{sol} A^{(t)}} \left(\frac{dWG^{(t)}}{dt} \right) \quad (6)$$

$$v_{HA}^{(t)} = \frac{m^{(0)}}{\rho_{HA}^{sol} A^{(t)}} \left(\frac{dAG^{(t)}}{dt} \right) \quad (7)$$

$$v_s^{(t)} = \frac{m^{(0)}}{\rho_s^{sol} A^{(t)}} \left(\frac{dSG^{(t)}}{dt} \right) \quad (8)$$

where ρ_i^{sol} is the mass concentration of component “i” in the marinade (kg of i per m^3 of marinade). The exchange surface area ($A^{(t)}$) was calculated from the length mass balance as follows:

$$A^{(t)} = 6[V^{(0)}(1 + MG^{(t)})]^{2/3} \quad (9)$$

Where $V^{(0)}$ is the initial meat cube volume. Eq. (9) assumes that the meat maintains its cubic shape as marination progresses, and that swelling or shrinkage is isotropic. This assumption is supported by May and Perré (2002) for materials of low initial porosity. Moreover, meat density is assumed to be constant.

2.5. Experimental design and statistics

A Doehlert uniform shell design (Doehlert, 1970) was used to determine the effects of the main marination process control variables on mass transfers. Correlations with the response variables were established with a quadratic model (Eq. (10)):

$$Y = a_0 + \sum_i a_i X_i + \sum_i a_{ii} X_i^2 + \sum_{ij} a_{ij} X_i X_j \quad (10)$$

Y is a response (MG , WG , AG , SG or pH). X_1 is the natural logarithm of the NaCl molality, $\ln(C_s)$; X_2 is the acid molality C_{HA} , and X_3 is the natural logarithm of processing time, $\ln(t)$. a_0 is the constant of the model, a_i is the linear regression coefficient of X_i , a_{ii} is the quadratic regression coefficient of X_i , and a_{ij} is the regression coefficient of the interaction between X_i and X_j . We used the natural log of the salt molality and marination time to get a better description of changes at low salt molalities and short processing time. Doehlert uniform shell design choice entails seven levels of NaCl molalities five molalities of acetic acid and three levels of time. These levels are presented at Table 2. 20 experimental runs were implemented: the 13 combinations of Doehlert network, plus five repetitions at the central point of the experimental domain and one repetition of two other points of the network. The experiments were performed in random order. Statistica 8.0 software (StatSoft® Inc., Oklahoma 74104, USA) was used to calculate the regression coefficients based on the least squares method. The significance of effects and regression coefficients were tested by variance analysis.

3. Results and discussion

3.1. Study of mass transfer

From the Doehlert Network, a multiple regression and variance analysis were carried out. Table 1 shows the coefficients obtained by multiple regression and significant levels for each response variable studied. The various responses studied are very well described by a second degree polynomial. The polynomial model used explained more than 97% of the variability in the experimental mass variation, water gain, acid gain and salt gain (all determination coefficients were higher than 0.97) and more than 92% of the variability in the experimental meat pH data.

3.1.1. Effect of Acetic acid, NaCl and time on water gain and mass variation

Table 1 reveals that the mass gains were greatly influenced by two of the three variables studied in the Doehlert network: the solution NaCl molality X_1 (negative effect) and the duration of treatment X_3 (positive effect). The solution acid concentration X_2 also positively influenced the mass gain, but with less weight. There was also a strong negative interaction between the variables time and marinade acid concentration. This represents the fact that the effect of time can be expressed differently according to the NaCl content in the marinade. We found that the mass and water gains were affected by the three variables studied in a very similar fashion, with very similar coefficient values. These elements suggest in general terms that the material transfers quantitatively consisted of water.

Fig. 1 presents the mass gain as a function of time and NaCl concentration C_s , for acid molality 1.1. This area can be broken down into two very distinct zones according to the NaCl concentration value C_s . For C_s values less than $0.1\text{--}0.4 \text{ mol kg}^{-1}$ according to the immersion time, a zone of high marinade impregnation was observed, in which impregnation was inversely proportional to C_s . The maximum mass gain achieved was 0.8 kg kg^{-1} for the longest time. Beyond molality C_s 0.3, a zone of occluded solution loss from meat, proportional to the marinade NaCl content was observed, in which mass gain values of -0.4 kg kg^{-1} were obtained for the highest C_s values.

Since water and mass losses are highly correlated ($r^2 = 0.99$), we observed a hydration and swelling regime for marinades dilute in NaCl, and a situation of shrinkage and dehydration for high NaCl

Table 1

Regression and analysis of variance of the second degree polynomial equations. $Y = a_0 + \sum_i a_i X_i + \sum_{ij} a_{ij} X_i^2 + \sum_{ij} a_{ij} X_i X_j$

| Coefficient ^a | Mass transfer expressed in kg kg ⁻¹ | | | | Meat pH |
|--------------------------|--|------------|-----------|------------|-----------|
| | Mass gain | Water gain | Acid gain | Salt gain | |
| a_0 | 0.076 | 0.063 | 0.017 | 0.00387 | 3.996 |
| <i>Linear</i> | | | | | |
| a_1 (ln(C_s)) | -0.290*** | -0.296*** | -0.009*** | 0.01057*** | 0.049 |
| a_2 (C_{HA}) | 0.057*** | 0.013 | 0.021*** | 0.00043 | -0.732*** |
| a_3 (ln(t)) | 0.115*** | 0.107*** | 0.013*** | 0.00346*** | -0.522*** |
| <i>Quadratic</i> | | | | | |
| a_{11} | -0.057* | -0.063** | -0.001 | 0.00848*** | -0.173 |
| a_{22} | -0.070** | -0.069** | 0.002 | -0.00016 | 0.741*** |
| a_{33} | 0.075** | 0.078** | 0.005** | 0.00133 | -0.287* |
| <i>Interaction</i> | | | | | |
| a_{12} | -0.075* | -0.052 | -0.010*** | -0.00076 | 0.204 |
| a_{13} | -0.244*** | -0.236*** | -0.011*** | 0.00554*** | -0.346 |
| a_{23} | 0.022 | 0.011 | 0.013*** | 0.00053 | -0.089 |
| R^2 | 0.97 | 0.98 | 0.98 | 0.98 | 0.92 |

^a Indexes 1, 2 and 3 refer respectively to the variables ln(NaCl molality), acid molality and ln (marination time).

*** Coefficients significant at $p < 0.01$, respectively.

** Coefficients significant at $p < 0.05$, respectively.

* Coefficients significant at $p < 0.10$, respectively.

Table 2

Doehlert Experimental design.

| Experiments | C_s (mol kg ⁻¹) | C_{HA} (mol kg ⁻¹) | Soaking duration (min) |
|-----------------|----------------------------------|-------------------------------------|---------------------------|
| 1 | 0.12 | 1.1 | 60 |
| 2 | 0.12 | 0 | 60 |
| 3 ^a | 1.07 | 0.82 | 60 |
| 4 | 0.01 | 0.27 | 60 |
| 5 | 0.01 | 0.82 | 60 |
| 6 ^a | 1.07 | 0.27 | 60 |
| 7 | 0.25 | 0.82 | 223 |
| 8 | 0.06 | 0.27 | 16 |
| 9 | 0.06 | 0.82 | 16 |
| 10 | 0.52 | 0.55 | 16 |
| 11 | 0.25 | 0.27 | 223 |
| 12 | 0.03 | 0.55 | 223 |
| 13 ^b | 0.12 | 0.55 | 60 |

^a Run repeated one time.

^b Run repeated five times (central point of the Doehlert network).

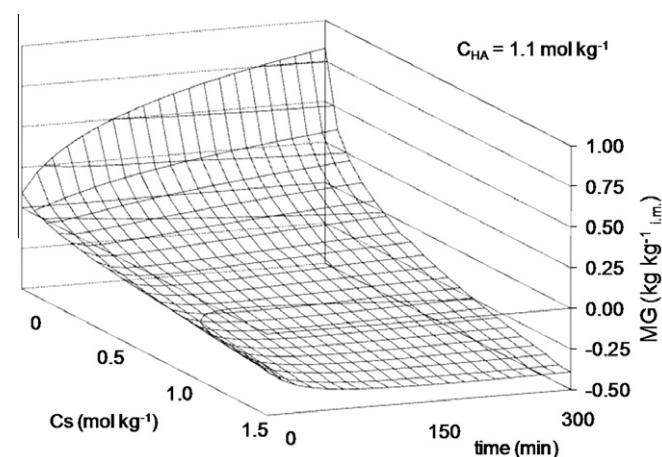


Fig. 1. Response surface of turkey meat cubes for mass gain MG as a function of time and NaCl molality C_s , for acetic molality $C_{HA} = 1.1$ after soaking in ternary solutions i.m. = index referring to the initial meat sample before processing.

contents, regardless of the acid content. Acid (Table 1) tended to compensate for the effect of NaCl, by slightly reducing the mass loss caused by NaCl (coefficient a_2 , low but positive). In the case

of a binary water–NaCl marinade ($C_{HA} = 0$ mol kg⁻¹), the polynomial model predicts that the maximum mass gain would only be 0.4 kg kg⁻¹.

In the domain of binary water–acid marinades ($C_s \approx 0$ mol kg⁻¹), Fig. 1 shows progressive meat swelling with time. The mass gain at 5 h reached values of 0.8 kg kg⁻¹ (i.e. a swelling of around 80%) for the highest acid molality of our domain, i.e. 1.1. This agrees with the literature, which explains this swelling by acid penetration into intracellular and intercellular spaces (Gault, 1991; Hwang et al., 2000). Rao et al. (1989b) demonstrated that below pH 4–5, the further pH falls, the more muscle swells. This phenomenon is due to the reduction in attraction forces between myofibrillar protein chains and to the reduction in constraints imposed by cross-links between thin actin filaments through solubilisation of Z lines (Ke et al., 2009). The opening and expansion of the matrix therefore cause marinade infiltration. Since the muscle *P. major* mainly comprises white, fast glycolytic fibres, it is normal for the swelling to be intense (Rao and Gault, 1989a).

If salt and acid are present simultaneously, it is known that the pH of least water retention (which usually corresponds to the isoelectric pH) shifts approximately one pH unit downward, i.e. to a pH of approximately 4.5. Hence the dehydrating effect of the presence of NaCl is strong for pH of around 4–5, by means of reduction in the positive repulsion forces ($R-NH_3^+$) caused by the strong affinity of Cl^- anions for proteins. If acidification is continued below pH 4, meat hydration starts to increase again in relation to non-marinated meat (Hamm et al., 1961).

Fig. 2 presents the evolution of mass gain as a function of time, for various NaCl molalities C_s in the marinade. It was put together based on the mathematical model issued from Doehlert network (Table 1) for an acid molality C_{HA} fixed at 0.55. It shows that for mass gain, equilibrium was not achieved in our working domain for low NaCl concentrations. Fig. 2 also demonstrates that for NaCl molalities greater than 0.3, and probably up to 1 mol kg⁻¹, for durations of more than the 5 h of the study domain, we could have achieved more limited mass losses, or even obtained swelling for NaCl molalities from 0.5 to 0.7. This agrees with the literature, where immersion treatments are generally applied over at least 24 h before mass equilibrium is reached (Gault, 1985; Hwang et al., 2000; Karlsson et al., 1996). Going on Fig. 2, we can describe and explain these phenomena according to the duration and marinade NaCl content by diffusion and mass transport phenomena under a pressure shift.

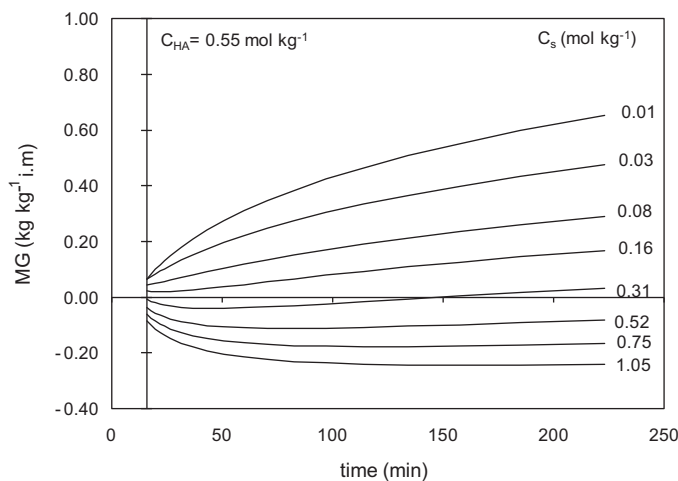


Fig. 2. Simulation of mass gain (MG) kinetics of turkey breast cubes (1 cm^3) at various NaCl molalities (C_s), for the marinade acid molality $C_{HA} = 0.55$. i.m. = index referring to the initial meat sample before processing.

For low NaCl concentrations ($C_s \leq 0.15 \text{ mol kg}^{-1}$), and for short time (less than 1 h), rapid diffusion of ions (protons and chloride in particular) induced an electrostatic repulsion in proteins, thereby attracting marinade toward the matrix by filtration, which was reinforced by an internal water attraction by means of osmotic imbalance, resulting in great swelling. This may reach 35% in 2 h, and increases with rising marinade acidity for marinades with the lowest NaCl and highest acid content.

For longer time, we saw that swelling continues, but then dips as diffusion phenomena take increasing importance in transport of solutes. In this domain of low salt marinade, we have superimposition of the diffusion and filtration phenomena. A balance on the water and solute transfer shows that up to 40% of the acetic acid and salt gained by the meat migrate by filtration in this domain.

For intermediate NaCl concentrations ($0.15 < C_s < 0.3 \text{ mol kg}^{-1}$), the marinade osmolarity was similar to that of the meat. For short times, the material balance is zero or even slightly negative. NaCl and acid gains were obtained only by diffusion. The water gain was low, and may even be negative. For longer times, we can observe water flux reversal, and a return to a regime of simultaneous mass and water gains. Solutes were transported by diffusion, possibly reinforced by moderate filtration.

For high ionic strengths ($C_s > 0.3 \text{ mol kg}^{-1}$) and short times, the water loss was intense (around 30%), which can be explained by a shrinkage of the matrix, and the mass gains were negative. The porous network formed by the meat then presented no obstacle to expulsion of occluded solution. The loss of water retention capacity by the matrix proteins was in synergy with this solution transport. The occluded solution was expelled by filtration. Flux of solutes, in the opposite direction to water, could only work by diffusion. For longer times, there was little change in the volume of the cubes between 60 min and the end of marination, as if the matrix opposed a fairly quickly reached mechanical shrinkage resistance (volume shrinkage 30%).

The marination kinetics of the 1 cm^3 turkey breast cubes were studied independently of the Doehlert network experimental design, in the same experiment domains of duration, NaCl and acetic acid contents. They were used as a basis for calculating flux densities and transport velocities for the three marinade components.

Fig. 3 demonstrates the evolution of water and solute migration velocities as functions of time, for particular marinade NaCl and acid content. Fig. 3a and c are a good representation of transition from a high impregnation regime to an occluded solution loss

regime by filtration for NaCl molalities greater than 0.15. For acid molality 1.03 and NaCl molality 0.15, the migration velocities of water, NaCl and acetic acid were 6.10^{-7} , 2.10^{-6} and $3.10^{-6} \text{ m s}^{-1}$, respectively. The migration velocities of the solutes were therefore greater than water, which can only be explained by superimposition of diffusion and filtration phenomena linked to deformation of the protein matrix.

Fig. 3a demonstrates that the water migration velocity was high at the start of marination, which indeed corresponds to the period of a rapid fall in pH. This fall in pH caused expansion of the matrix by electrostatic repulsion between protein chains, but we need to wait for the longest duration to observe the greatest swelling. This shift is certainly related to the fact that the acid and protons need to diffuse to the core of the cube, propagating the swelling situation (Knight and Parsons, 1988). These changes of regime as a function of time and both NaCl and acid contents are little known phenomena, since the effects of salt and acid on meat are in general studied separately. Kakaktar et al. (2003) and Rodger et al. (1984) confirmed this trend by revealing that on fish soaked in acetic acid solution, the presence of NaCl caused greater reduction in water content with rising NaCl concentration. Medynski et al. (2000) demonstrated on pork and beef that the lowest water retention was obtained when lactic acid and NaCl were present simultaneously.

Fig. 4 is a proposed diagram to represent the transfer mechanisms, derived from the behaviour described by kinetic analysis of the transfers and preceding deformations. For the sake of simplification, the muscle fibres are represented as a cross-section perpendicular to their longitudinal axis. The situation depicted in the upper part is that of swelling by expansion of the matrix (repulsion between myofibrillar proteins, with increased hydration) encountered in cases of immersion in marinades with low NaCl concentration ($C_s < 0.3 \text{ mol kg}^{-1}$) containing acid. We can theorise that expansion of the protein matrix induces application of a mechanical force on the internal walls of the meat cube, leading to the appearance of internal pressure below that prevailing in the marinade.

This pressure gradient is the driving force of marinade infiltration which is made possible by the porous nature of the meat's protein network. The sarcoplasmic membranes, represented as a dotted line, put up only a little resistance to this marinade transport, and therefore to the subsequent swelling. Indeed, this separation between fibres has lost part of its integrity and semi-permeability in the course of postmortem maturation (Winger and Pope, 1981). This situation explains the high infiltration regime observed, which was reinforced by a diffusion mechanism for solutes (NaCl and acid) due to their specific concentration gradient, which consequently induced for them an overall migration velocity greater than that of water. This situation was only observed for NaCl molalities of less than 0.3. The lower part of Fig. 4 represents the reverse situation. It corresponds to the situations encountered during immersion in marinades with higher NaCl concentrations. The decrease in water retention capacity and increase in attraction forces between myofibrillar proteins caused by the decrease in pH in the presence of NaCl caused shrinkage of the matrix (Hamm et al., 1961). Indeed, after 16 min of immersion only, the average pH of the cube is 4–4.5. It implies that it is even lower in the superficial layer of the meat cubes. This shrinkage induced a mechanical force exerted on the internal walls. In this case, the consequence of volume loss could be manifested by an increase in internal pressure, driving leakage of occluded solution from the meat via transport in the porous network formed by the myofibrillar matrix. Furthermore, hypertonia of the marinade induced a diffusion regime in the opposite direction. The persistence of this diffusion at long times explains that in the two situations described, at the end of marination we

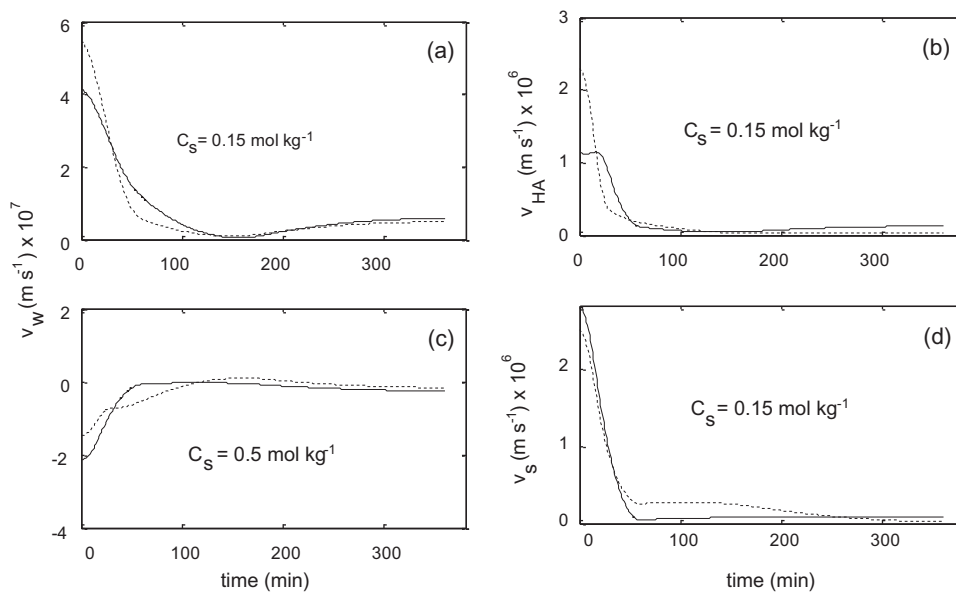


Fig. 3. Velocity (v_i) of water, (a) and (c), acid (b) and NaCl (d) at the turkey meat/marinade interface for different molalities of acetic acid (C_{HA}) 0.25 (—) and 1.00 (---) and molalities of NaCl (C_s), 0.15 or 0.5.

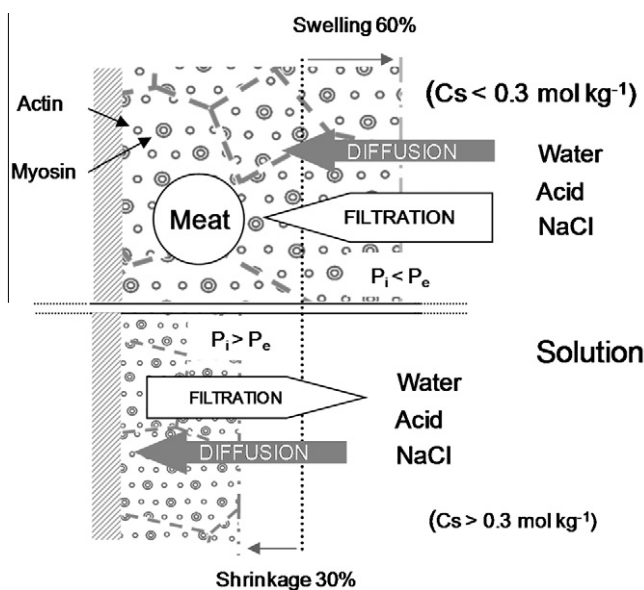


Fig. 4. schematic of material transfer, according to the salt molality of the immersion solution ($C_s > 0.3$: situation of shrinkage, internal pressure (P_i) is superior to external pressure (P_e); $C_s < 0.3$: situation of swelling, internal pressure is inferior to external pressure). (---) represents the meat/solution interface at initial time.

observed equilibrium in the solute concentrations between the meat and marinade, despite filtration currents in opposing directions.

3.1.2. Effect of the treatment on acid gain

Table 1 reveals that the three variables studied (t , C_{HA} and C_s) influence acid gain. We should note a negative effect of NaCl content on acid gain, which supposes a general trend on limitation of acid impregnation as the NaCl content of the solution increases. This effect of NaCl may be qualified as indirect insofar as high NaCl contents promote shrinkage. And the analyses carried out on cubes at the end of marination (223 min for the experimental design, and

360 min for the kinetics) demonstrated that whatever the NaCl content of the marinades, the meat was at equilibrium in titratable acidity with the marinade. Hence in cases of medium and high NaCl contents, reducing the volume of the cubes mathematically imposes a smaller acid gain than in cases of neutrality or large volume increases.

Furthermore, the fact that the three interactions of the experimental design analysis (Table 1) are highly significant ($p < 0.01$) indicates that according to where we are in the experiment domain, the effect of a factor on the NaCl gain will be strongly influenced by the level of the other two factors.

For the same duration, we found by calculation a slight acid loss for acidic marinades with low molality ($C_{HA} \leq 0.15$). This agrees with the work on beef by Gault (1985), in which a fall in acid content was found during marination in marinades with low acid concentration. It is consistent that we have acid losses beyond the lactic acid content of the post-rigor turkey, which we measured at approximately 0.1 mol kg^{-1} of lactic acid.

3.1.3. Effect of the treatment on salt gain

Table 1 demonstrates that the salt gain was strongly influenced ($p < 0.01$) by the duration and marinade salt concentration, C_s , but that acid did not have a significant effect on salt impregnation ($p > 0.1$).

The analyses carried out on cubes at the end of marination (223 or 360 min) demonstrated that the meat was at equilibrium in salt content with the marinade.

3.1.4. Effect of the treatment on the meat pH

The table of regression coefficients (Table 1) demonstrates that pH changes were influenced primarily by acid content and time. The negative quadratic component of acid content was strong and highly significant ($p < 0.01$). It manifests the fact that the rate of fall in pH decreased as the marinade acid content increased.

This phenomenon could be explained by the great imbalance in free protons content between the marinade and meat muscle at low acid contents. The marinade most dilute in acid in the working domain had a pH of 2.7, whereas the most concentrated had a pH of 2.4, with the pH of the meat being approximately 5.8. This

explains a big influx of protons, which was barely greater for the most acidic marinades in our domain than for the least acidic.

This phenomenon was encountered when we titrated a turkey meat homogenate, where we found that the pH fell quickly at the start of acidification, and then the rate of fall decreased with subsequent additions (Goli et al., 2007).

We also know that proton transport in the food matrices can be accelerated by transport chains by water molecules (Mentré, 2002) or by mobile buffer chains (Vaughan-Jones et al., 2002); which may explain the rapid fall in pH during marination.

For the longest immersion time, the analyses carried out demonstrated that the pH equilibrium between the marinade and the meat was not achieved. There was a persistent discrepancy of around 0.5 pH unit, whatever the marinade acidity, which agrees with the work by Gault (1985). This also suggests continued denaturation of the meat proteins, exposing buffering chemical groups, while equilibrium in acid contents was reached. With five hours' marination, the marinade pH increased for the most acidic marinades by around one pH unit. This can only be explained by the buffering capacity of the proteins lost by the meat in the course of marination.

3.2. Relations between pH and acidity in the course of marination

Fig. 5 was drawn up based on the kinetic experiments. It presents, for the average of three repetitions of two treatments (C_{HA} 0.25 and 1.03 mol kg⁻¹, C_s fixed at 0.5 mol kg⁻¹), the relations between pH and acidity of the meat in the course of marination. It also incorporates relation curves between the acidity and pH obtained for aqueous solutions or acidified meat homogenates ("aqueous" and "model" series, respectively). "The "model" curve represents the pH of a meat homogenate which would have been added acetic acid in order to reach any acidity of the x axis of the graph of Fig. 5. These pH values have been calculated taking into account the buffering capacity of the meat, as detailed in the article of Goli et al. (2007). (INSERT Fig. 5) We found that this curve presents a far higher pH than that of an aqueous solution ("aqueous" data) of the same acid concentration, of around two additional pH unit. This phenomenon is well known, and is due to the fact that many meat components have a buffering capacity (Honikel, 2004). These buffer compounds are partly soluble (lactates/lactic acid, dipeptides, soluble sarcoplasmic and myofibrillar proteins). They are particularly abundant in the "white" fibres that make up a major part of the muscle on which this work was carried out (Rao and Gault, 1989a). They will be partially extracted by the marinade. Other components are less water-soluble, and have a considerable buffering capacity, such as side groups of structural proteins. With long duration immersions, there may be high loss of proteins, of up to 30% according to Gault (1985). In the kinetics presented in the section above, the material balance leads to losses of up to 20–30% of proteins after 6 h, whatever the treatments. Fig. 5 illustrates this phenomenon for some treatments. We found that the longer the immersion time, the further the pH falls below the values given by the "model" curve of a meat with its buffering capacity intact. This difference reached one pH unit under our conditions after six hours' marination.

These experiments were able to demonstrate that substance losses from small-sized pieces during marination over several hours were such that the pH obtained could be 1 unit below the theoretical pH of an acidified meat.

4. Conclusion

This study is a significant contribution to improving knowledge of transfers and pH modifications during marination of meat in

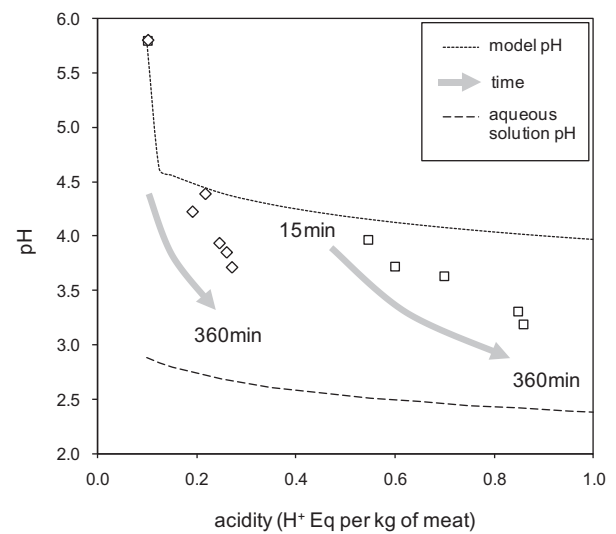


Fig. 5. pH of turkey breast cubes (1 cm³) as a function of acidity at different times for various acetic acid and NaCl molalities: C_{HA} = 0.25 and C_s = 0.5 (◇); C_{HA} = 1.03 and C_s = 0.5 (□). Standard deviations were too small to be clearly represented. Aqueous solution pH is the pH of an acetic acid aqueous solution, and model pH is the pH of an acidified meat homogenate calculated according to Goli et al. (2007).

NaCl and acetic acid marinades, for which there was very little data available. In the experimental domain investigated (salt and acid molalities 0–1.5 and 0–1.1, respectively), it was demonstrated that the NaCl concentration of 0.2–0.3 mol kg⁻¹ appears to be a threshold above which a dehydration regime was observed, whatever the marinade acid content. Up to this threshold, according to the acid and NaCl content, we could observe increasing swelling with rising acid content. In an intermediate domain of NaCl content, in the presence of acid, it was demonstrated that a swelling regime could follow an initial matrix volume reduction phase. In a subsequent study, it would be interesting to correlate these observations with evolution of properties such as water retention, cooking loss or tenderness, as these properties are generally recognised as being associated with the swelling accompanying acid or salt treatment. The analysis of fluxes and transport velocities of water and solutes drawn from the kinetic studies was able to demonstrate that whatever the water movements, solute transport mechanisms by means of diffusion were superimposed on or replaced transport by means of filtration.

These results, derived from a simple method based on kinetic balances for the average cube composition taking into account the evolution of its external surface, ought to be compared with those from more localised studies on evolution of structure, composition and tissue properties during marination. Moreover, the flux densities and transfer kinetics of water and solutes that we have observed might have been slightly affected by the fact that we used frozen-thawed instead of fresh meat, often used in industry. However, we assume that the impact on regime changes and mechanisms described would not have been significant.

The significant loss of components with high buffering capacity was revealed by the material balance and by observation of a significant pH discrepancy from the theoretical pH of an acidified meat, which reached 1 pH unit after six hours' marination.

References

- AFNOR, 1968. NF V04-401. Viandes et produits à base de viande. Détermination de l'humidité. In: Recueil de normes "Produits de l'Agriculture", Association Française de Normalisation, Paris, France, pp. 45–47.
- Bjorkroth, J., 2005. Microbiological ecology of marinated meat products. Meat Science 70 (3), 477–480.

- Doehlert, D.H., 1970. Journal of the royal statistical society. Series C (Applied Statistics) 19 (3), 231–239.
- Gault, N.F.S., 1985. The relationship between water-holding capacity and cooked meat tenderness in some beef muscles as influenced by acidic conditions below the ultimate pH. *Meat Science* 15 (1), 15–30.
- Gault, N.F.S., 1991. Marinated meat. In: Lawrie, R.A. (Ed.), *Developments in Meat Science*, vol. 5. Elsevier Applied Science Ltd., UK, London, pp. 225–228.
- Goli, T., Abi Nakhoul, P., Zakhia-Rozis, N., Trystram, G., Bohuon, P., 2007. Chemical equilibrium of minced turkey meat in organic acid solutions. *Meat Science* 75 (2), 308–314.
- Hamm, R., Chichester, C.O., Mrak, E.M., 1961. *Biochemistry Of Meat Hydration*. Advances in Food Research, vol. 10. Academic Press, New York, pp. 355–63.
- Honikel, K.O., 2004. Chemical and physical characteristics of meat. pH Measurement. In: *Encyclopedia of Meat Sciences*. Elsevier, Oxford, pp. 238–242.
- Hwang, I.H., Lin, C.W., Chou, R.G.R., 2000. Effect of lactic or acetic acid on degradation of myofibrillar proteins in post-mortem goose (*Anser anser*) breast muscle. *Journal-of-the-Science-of-Food-and-Agriculture* 80 (2), 231–236.
- Kakaktar, A., Sharma, A., Venugopal, V., 2003. Hydration of muscle proteins of Bombay duck (*Haripodon nehereus*) during acetic acid-induced gelation and characteristics of the gel dispersion. *Food Chemistry* 83 (1), 99–106.
- Karlsson, A., Andersson, A., Lundstrom, K., Ridderstrale, Y., 1996. Influence of marinade pH on muscle fibre area and water holding capacity of raw porcine longissimus dorsi muscle. *Fleischwirtschaft* 76 (6), 634–636.
- Ke, S., Huang, Y., Decker, E.A., Hultin, H.O., 2009. Impact of citric acid on the tenderness, microstructure and oxidative stability of beef muscle. *Meat Science* 82 (1), 113–118.
- Knight, P., Parsons, N., 1988. Action of NaCl and polyphosphates in meat processing: responses of myofibrils to concentrated salt solutions. *Meat Science* 24 (4), 275–300.
- May, B.K., Perré, P., 2002. The importance of considering exchange surface area reduction to exhibit a constant drying flux period in foodstuffs. *Journal of Food Engineering* 54 (4), 271–282.
- Medynski, A., Pospiech, E., Kniat, R., 2000. Effect of various concentrations of lactic acid and sodium chloride on selected physico-chemical meat traits. *Meat Science* 55 (3), 285–290.
- Mentré, P., 2002. L'eau dans la cellule vivante. Etat physique, fonctions. In: *Lavoisier, Propriétés de l'eau dans les aliments*, vol. Le Mesle M., Lorient D, Simatos D, Paris, pp. 85–09.
- Munasinghe, D.M.S., Sakai, T., 2004. Sodium chloride as a preferred protein extractant for pork lean meat. *Meat Science* 67 (4), 697–703.
- Offer, G., Knight, P., Jeacocke, R., Almond, R., Cousins, T., Elsey, J., Parsons, N., Sharp, A., Starr, R., Purslov, P., 1989. The structural basis of water holding in meat. Appearance and toughness of meat and meat products. *Food Microstructure* 4 (8), 151–170.
- Oreskovich, D.C., Bechtel, P.J., McKeith, F.K., Novakofski, J., Basgall, E.J., 1992. Marinade pH Affects textural properties of beef. *Journal of Food Science* 57 (2), 305–311.
- Rao, M.V., Gault, N.F.S., 1989a. The influence of fibre-type composition and associated biochemical characteristics on the acid buffering capacities of several beef muscles. *Meat Science* 26 (1), 5–18.
- Rao, M.V., Gault, N.F.S., Kennedy, S., 1989b. Variations in water-holding capacity due to changes in the fibre diameter, sarcomere length and connective tissue morphology of some beef muscles under acidic conditions below the ultimate pH. *Meat Science* 26 (1), 19–37.
- Rodger, G., Hastings, R., Cryne, C., Bailey, J., 1984. Diffusion properties of salt and acetic acid into herring and their subsequent effect on the muscle tissue. *Journal of Food Science* 49, 714–720.
- Schmidt, F.C., Carciofi, B.A.M., Laurindo, J.B., 2008. Salting operational diagrams for chicken breast cuts: hydration–dehydration. *Journal of Food Engineering* 88 (1), 36–44.
- Svensson, B., Tornberg, E., 1998. Prediction of acid induced pH decrease in meat. Conference proceedings of the 44th ICOMST, 30 August–6 September 1998, Barcelona, Spain, pp. 506–507.
- Vaughan-Jones, R.D., Peercy, B.E., Keener, J.P., Spitzer, K.W., 2002. Intrinsic H⁺ ion mobility in the rabbit ventricular myocyte. *The Journal of Physiology* 541 (1), 139–158.
- Winger, R.J., Pope, C.G., 1981. Osmotic properties of post-rigor beef muscle. *Meat Science* 5 (5), 355–369.
- Yusop, S.M., O'Sullivan, M.G., Kerry, J.F., Kerry, J.P., 2010. Effect of marinating time and low pH on marinade performance and sensory acceptability of poultry meat. *Meat Science* 85 (4), 657–663.

3.2. Évolution du pH lors de l'acidification

3.2.1. Introduction et synthèse des résultats marquants

La plupart des propriétés techno-fonctionnelles de la viande dépendent fortement du pH. Il est par conséquent très important de bien contrôler cette variable lors de la mise en œuvre du procédé de marinage. Une première étape dans le contrôle du pH consiste à prédire sa valeur à partir des équilibres de dissociation de l'acide de marinage et de la réactivité de la matrice. Des travaux antérieurs réalisés sur homogénat de viande, (Goli *et al.*, 2007), montrent l'applicabilité d'une méthode basée sur (i) la détermination préalable du pouvoir tampon de la viande par acidification au moyen d'un acide fort et (ii) la prise en compte des équilibres de dissociation de l'acide de marinage dans l'homogénat. Pour pouvoir tester cette démarche en marinage, il nous a semblé important de l'approfondir (i) en l'appliquant à des matrices présentant des pouvoirs tampon différents, (ii) en basant les équilibres sur la matière sèche de la viande, et (iii) en réalisant des prédictions de pH sur cubes de viande de dinde acidifiés par immersion pendant des durées allant jusqu'à 6 heures. Les données de pH en immersion sont celles des suivis cinétiques de cubes de l'article n°1.

Les résultats obtenus montrent la possibilité de prévoir le pH d'homogénats de viandes de pouvoirs tampons variés, à 0,1 unité près, dans la gamme de pH de 4 à 5. Pour indication, le pouvoir tampon moyen de muscles de filets de limande est de l'ordre de $50 \text{ mmol H}^+ \text{ pH}^{-1} \text{ kg}^{-1}$, tandis que celui de la dinde est 3 à 4 fois plus élevé. Les autres matrices étudiées se situent dans l'intervalle. Cette valeur est corrélée avec la teneur en lactate, ce qui montre l'importance de ce constituant dans la viande pour le pouvoir tampon dans la zone de pH considérée.

La prédiction de pH sur cubes de dinde marinés n'a pas été concluante. L'écart entre le pH observé et le pH calculé se creuse d'autant plus que la durée du marinage augmente. La tendance observée est celle d'une surestimation du pH par le calcul obtenu au moyen de notre modèle. Ceci peut s'expliquer par une baisse du pouvoir tampon de la viande avec le temps de marinage, qui avait été constatée dans l'article n°1 de cette thèse.

Plusieurs éléments doivent être considérés en vue d'une réflexion plus approfondie sur l'évolution de la matrice au cours du marinage :

- La perte de matière sèche de la matrice atteint environ 30% au bout de 6 heures de marinage. La plus grande partie de cette matière perdue est constituée de protéines.

- La perte de lactate ne représente que le dixième de cette matière perdue environ. Toutefois, sa participation à la baisse de pouvoir tampon de la matrice est certainement déterminante.
- La réactivité acido-basique de la matrice est liée à la conformation des protéines, elle-même influencée par la force ionique et le pH.

Les points saillants de cette seconde partie expérimentale sont les suivants :

- Le pouvoir tampon d'homogénats de muscles de viandes et poisson en fonction du pH a été déterminé.
- Une méthode de prédiction du pH lors de l'acidification par l'acide acétique, basée sur (i) la prise en compte du pouvoir tampon et (ii) la dissociation de l'acide a été validée.
- Un calcul basé sur le même principe a été testé pour prédire le pH de cubes de viande de dinde soumis au marinage en acide acétique.
- Tel que présagé dans l'article n°1, le calcul conduit à une sous estimation importante du pH, qui est liée au temps de marinage.
- Cette sous estimation pourrait être expliquée en partie par la perte importante de composés à pouvoir tampon (protéines et lactate).

3.2.2. Texte de l'article publié dans Meat Science : Evolution of pH during immersion of meat protein matrices in acidic marinades.



Evolution of pH during immersion of meat protein matrices in acidic marinades

T. Goli ^{a,*}, P. Bohuon ^b, J. Ricci ^a, A. Collignan ^b

^a CIRAD, UMR QualiSud, Food Process Engineering TA B-95/16, 73, rue JF Breton 34398 Montpellier cedex 5, France

^b Montpellier SupAgro, UMR QualiSud, Food Process Engineering Research Unit, 1101 avenue Agropolis, CS 24501, 34093 Montpellier cedex 5, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 10 May 2011

Received in revised form 8 August 2011

Accepted 6 October 2011

Keywords:

Acidic marination

Meat products

Acetic acid

Buffering capacity

pH prediction

Turkey meat

ABSTRACT

The pH value is a fundamental datum to be monitored during marination. A method is proposed for calculating the evolution of pH of turkey meat cubes during marination in an acetic acid solution. It is based on measurement of the buffering capacity by acidification using a strong acid. A calculation based on the dissociation equilibrium of acetic acid is used to estimate the mean pH reached, factoring in the acid content of the meat. For long marination times, the calculated pH is over-evaluated in relation to the experimental value. This can be explained by the significant loss of buffering substances during immersion. After 6 h of immersion, the matrix's proton binding capacity may be reduced to just 20% of the initial value. Hence to improve the prediction of meat cut pH during marination, it is necessary to factor in the outgoing flow of buffering substances.

© 2011 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Acidic marination is a widespread method of improving the technological properties of meat (Yusop, O'Sullivan, Kerry, & Kerry, 2010). By acting on the pH, it controls several components relating to the meat's quality, such as water holding capacity, tenderness, juiciness and colour (Gault, 1985; Hamm, 1986; Medynski, Pospiech, & Kniat, 2000; Offer & Knight, 1988). These properties are often correlated with swelling and/or increased extractability of myofibrillar proteins, which result from the increase in ionic strength and fall in pH (Aktas, Aksu, & Kaya, 2003; Bertram, Kristensen, & Andersen, 2004; Lewis & Purslow, 1991).

When acid is added to a muscle tissue homogenate, the fall in pH exhibits inertia due to rapid binding of the protons by the exposed matrix (Goli, Abi Nakhoul, Zakhia-Rozis, Trystram, & Bohuon, 2007; Goli, Bohuon, Ricci, Trystram, & Collignan, 2011; Honikel, 2004; Svensson & Tornberg, 1998). At a given pH value, the molecules present in meat which exert the highest buffering capacity are those with a pK_a near to this pH. At physiological pH, besides the structural proteins which are responsible for approximately 50% of the buffering capacity, non-protein nitrogen compounds and phosphate-based molecules contribute to the buffering capacity (Aristoy & Toldrá, 1998; Honikel & Hamm, 1974; Ogata, Konno, & Silverstein, 1998; Okuma & Abe, 1992; Pösö & Puolanne, 2005; Puolanne & Kivikari, 2000).

At lower pH values (3 to 5), an increase in buffering capacity is observed, attributable to the presence of lactate accumulated by anaerobic glycolysis, which may reach a concentration of around 0.1 mol kg⁻¹ in

certain beef and poultry muscles (Hamm & Deatherage, 1960; Rao & Gault, 1989). This buffering capacity may be measured by acidification of a homogenate using a strong acid, such as hydrochloric acid. Several approaches to predicting the pH of muscles subjected to marination have been proposed (Goli et al., 2007; McCarthy, Heil, Krugermann, & Desvignes, 1991; Svensson & Tornberg, 1998). These studies are based on factoring in the meat's buffering capacity over the pH range in question, and on determining the balances of the chemical compounds present at equilibrium after adding a given quantity of weak acid, or after a period of immersion in an acidic solution. In these simple approaches, it is assumed that in the marination pH range (5.5 to 4), the matrix acts as a base that will be protonated by the acid added. Therefore, only a tiny proportion of the free protons express the pH (Goli et al., 2007).

Other calculation methods are based on the number of titratable groups present in the reaction unit, or on thermo-chemical principles (Bendall, 1962; Cann & Coombs, 1971; Lebert & Daudin, 2009; Tanford, 1962). At present, these methods are only applied to pure proteins (polyglutamic acid, gelatin) or to making predictions about muscle homogenates. Functional groups with an acidic or basic function provide the buffering capacity. Among the most active groups are the carboxylic groups at the end of the peptide chains and side groups on the amino acids (particularly glutamic and aspartic acid), lysine, amines at the ends of peptide chains, arginine guanidyl, histidine imidazolyl and tyrosine phenol (Tanford, 1962). Cann and Coombs (1971) proposed a scheme whereby the added acetic acid molecules are mainly associated with the protein titratable groups of the matrix via hydrogen bonds.

These methods are limited due to interacting factors such as denaturation of proteins, which masks or exposes reactive zones, according to modifications of their tertiary or quaternary structures (Bendall, 1962), the matrix's transport properties and loss of buffering substances

* Corresponding author at: CIRAD, UMR QualiSud, 73 rue Jean-François Breton, TA 95/B15, 34398 Montpellier cedex 5, France. Tel.: +33 467 61 5716; fax: +33 467 61 4449.
E-mail address: thierry.goli@cirad.fr (T. Goli).

during immersion (Gault, 1985; Goli et al., 2011; Howat, Sievert, Myers, Koonce, & Bidner, 1983).

The objective of this work is twofold – firstly, to evaluate the capacity of various meat matrices (turkey, beef, dab, chicken) to bind protons supplied to a homogenate in a closed medium, as a function of the pH of the medium; secondly, to develop a method to predict the mean pH reached in turkey breast cubes after marination, from the buffering capacity data determined in the first part.

2. Material and methods

2.1. Raw material

Postrigor turkey (2 different batches labelled A and B) and chicken breast cuts, chicken legs, beef sirloin and dab fillets (*Limanda limanda*) were purchased from a local market. They were cut into ≈ 0.20 kg units, vacuum packed and immediately deep-frozen in an air-blast vertical freezer (Facis, France), and stored for less than 2 months at -18°C until use. The frozen cuts were thawed overnight at $+4^\circ\text{C}$ before use. The marinades and acidification solutions were prepared from 100% acetic acid (Merck, Germany), ultra-pure sodium chloride, 1 N standard HCl (Acros Organics, Belgium) and deionised water.

2.2. Experimental setup and methods

The defrosted meat and fish cuts were subjected to either (i) HCl acidification and acetic acid acidification, in homogenate form (all 7 types of cut) – referred to hereafter as the “closed medium” experiments; or (ii) marination by immersion in an aqueous solution of salt and acetic acid, in cube form (turkey breast A only) – referred to hereafter as the “open medium” experiments.

2.2.1. Closed medium

The aim was to measure the buffering capacity of the matrix (HCl acidification), and to obtain data on which the pH calculation method could be tested (acetic acid acidification). The meat or fish cuts were first minced in a domestic rotary cutter (Moulinex type D56, France), and 5 g samples of the minced meat were then homogenised with 60 ml of deionised water (Ultra Turrax Ika T25, Germany). 20 ml of the homogenates were progressively acidified using an automatic titrator (Schott Titroline Easy), equipped with a Schott N52A pH probe, connected for recording the pH curve via an RS232 interface to a PC installed with Titroline Chart v. 1.5.16 software (Schott, Germany). In the first run, 0.1 N HCl solution was used (0.25 ml every 20 s). In the second run, 0.5 N acetic acid solution was used (0.10 ml every 20 s). Acidification was carried out in triplicate at $20 \pm 2^\circ\text{C}$.

2.2.1.1. Buffering capacity calculations. The approach was inspired by the work of Puolanne and Kivikari (2000). After each addition of HCl solution, the cumulative volume of HCl added was converted into a concentration in the reaction medium C_{HCl} (mmol H^+ per kg of meat). Eq. (1) was used, for each of these points, to calculate the quantity of HCl added that caused the pH of 1 kg of meat to fall by 1 unit. This was the buffering capacity, β , expressed in mmol $\text{H}^+ \text{pH}^{-1}$ per kg meat on a wet weight basis:

$$\beta = \frac{\delta C_{\text{HCl}}}{\delta \text{pH}} \quad (1)$$

To estimate the value of β for each pH value of the acidification runs, the gradient between 2 successive additions of HCl was calculated ($\Delta C_{\text{HCl}}/\Delta \text{pH}$). The scatter plot obtained (β vs. pH) underwent cubic spline smoothing, after elimination of any atypical points by Grubbs' test (Statistica software, Statsoft, USA).

Based on the HCl acidification data, the “mean” buffering capacity could be expressed over the pH range of 3.5–5, $\bar{\beta}$, using Eq. (2):

$$\bar{\beta} = \frac{C_{\text{HCl}/3.5} - C_{\text{HCl}/5}}{1.5} \quad (2)$$

where $C_{\text{HCl}/3.5}$ or $C_{\text{HCl}/5}$ is the HCl concentration (in mmol H^+ per kg of meat) resulting from the quantity of acid added to reach pH 3.5 or 5.

The “maximum” buffering capacity, denoted β_{max} is the buffering capacity of the homogenate at the pH corresponding to the pK_a of lactic acid (pH = 3.9), a substance with the highest buffering capacity in the pH range of 3–5:

$$\beta_{\text{max}} = \left. \frac{\delta C_{\text{HCl}}}{\delta \text{pH}} \right|_{3.9} \quad (3)$$

2.2.1.2. Calculating bound proton contents $[H_b]$. Using a strong acid (HCl) to acidify a muscle tissue homogenate provides access to the quantity of protons bound to the protein matrix (Svensson & Tornberg, 1998). The calculation given in Eq. (4) was based on the fact that in aqueous solution the acid is completely dissociated:

$$[H_b] = [\text{HCl}] - 10^{-\text{pH}} \quad (4)$$

where $[H_b]$ is the content of bound protons in eq $\text{H}^+ \text{l}^{-1}$, and $[\text{HCl}]$ the concentration of strong acid in moles per litre of reaction medium.

To be able to extend the possibilities of the calculation to marinated meat cubes, prone to deformation and losing matter through solubilisation, the specific proton binding capacities of each meat were expressed in eq $\text{H}^+ \text{kg}^{-1}$ of meat dry matter:

$$[H_b]_{\text{dm}} = [H_b] \frac{V_w + V_m + V_{\text{HA}}}{V_m \cdot D_m} \quad (5)$$

where: V_w , V_m , and V_{HA} are the respective volumes of water, meat and acid in the reaction medium, in litres.

By simplification, since the specific gravity of the meat is close to one, 1 kg of meat could be likened to 1 l of meat. D_m is the dry matter mass fraction of meat (kg of dry matter per kg of meat). Over the pH range of 3.5–5, the evolution of $[H_b]$ as a function of pH was represented in the form of a 2nd order polynomial using Eq. (6):

$$[H_b]_{\text{dm}} = a + b \text{pH} + c \text{pH}^2 \quad (6)$$

The polynomial regression tool of the advanced statistic group of Statistica 9.1 was used (Statsoft, USA).

2.2.1.3. pH calculations in a closed system. The pH of a meat containing a given quantity of weak acid was obtained from the expression of the constant of dissociation for acid in water, as per Goli et al. (2007):

$$[\text{HA}]_0 = \frac{[H_b]_e [H^+]_e}{K_a} + [H_b]_e \quad (7)$$

And:

$$[\text{HA}]_0 = [H_b]_e \left[1 + 10^{(\text{pK}_a - \text{pH})} \right] \quad (8)$$

where $[\text{HA}]_0$ is the total concentration of weak acid present through addition to the homogenate.

The subscript “e” designates the concentration or content at equilibrium of the species in question, expressed in mol l^{-1} . Since $[H_b]$ and pH are linked by Eqs. (5) and (6), a single pH value corresponds to a weak acid concentration in Eq. (8). For each acetic acid concentration $[\text{HA}]$ in the homogenate, the pH value is obtained by resolving the system of Eqs. (6) and (8) (Microsoft Excel solver).

2.2.2. Open medium

The aim was to obtain a variety of acetic acid acidified meat cubes on which the pH calculation method could be tested. One of the samples (turkey breast A) was sliced transversally after thawing into 0.01 m thick strips using a ham slicer. From these strips, cubes measuring 0.01 m on each side were manually cut for marination in acetic acid and salt aqueous solution. Batches of 20 meat cubes (about 0.020 kg) were immersed in 0.5 l glass jars filled with 0.3 l of marinade. Each immersion batch (jar) was carried out in triplicate at ambient temperature ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) on an oscillating agitator (Heidolph Promax 2020, Germany). Each group of three similar jars corresponds to one particular combination of time, acetic acid molality and sodium chloride molality. Marination runs were carried out in solutions comprising water, NaCl (molalities: 0; 0.15; 0.5 and 1.5) and acetic acid (molalities: 0.25 and 1.03) for 0.25, 0.5, 1, 3 and 6 h marination times.

After treatment, the cubes were removed from the marinade and then weighed jar by jar for mass variation calculation. Before analysis, the cubes from the three similar jars were minced together for 30 s. The responses measured were mass, pH and composition (water, acid and salt content), from which the gains as a function of time were deduced. Using the matter balance, the overall loss of matter was deduced other than NaCl and acetic acid, DMI (Dry matter loss):

$$\text{DMI} = -(\text{MG} - \text{WG} - \text{SG} - \text{AG}) \quad (9)$$

where MG, WG, SG and AG are respectively the mass gain, water gain, salt gain and acid gain in kg, per 100 kg of initial matter. The non-salt dry matter, D_m , was obtained as follows:

$$D_m = 1 - W_w - W_s \quad (10)$$

where W_w and W_s are respectively the water content and salt content of the meat cubes after marination, in kg kg^{-1} .

2.2.2.1. pH calculations in open medium. At time t , the bound proton content, $[\text{H}_b]^{(t)}$ depends on the dry matter content $D_m^{(t)}$:

$$[\text{H}_b]^{(t)} = [\text{H}_b]_{dm} D_m^{(t)} \quad (11)$$

Hence based on Eqs. (8) and (11):

$$[\text{HA}]^{(t)} = [\text{H}_b]_{dm} D_m^{(t)} \left[1 + 10^{(\text{pK}_a - \text{pH})} \right] \quad (12)$$

For a given time (characterised by an HA concentration in the cube), a single pH value could satisfy Eq. (12), since $[\text{H}_b]$ and pH are linked. Hence the pH value and $[\text{H}_b]$ value satisfying Eq. (12) for each $[\text{HA}]^{(t)}$ value was identified (Microsoft Excel solver).

2.2.2.2. Evaluation of buffering capacity losses during immersion in water. To evaluate the influence of immersion on the meat's variable $[\text{H}_b]$, a batch of turkey breast muscle cubes was subjected to immersion in deionised water under the same conditions as for the marinades made with acidic solutions. After 0.25, 0.5, 1, 3 and 6 h immersion, the treated cubes were minced and then acidified in HCl as indicated in § 2.2.1.2 to determine $[\text{H}_b]$ vs. pH. This acidification data was also used to determine the buffering capacity as a function of pH over the pH range of 3.5–5. The titratable acidity of these cubes was also determined to calculate their quantity of residual lactate.

2.3. Measurements

The pH of the homogenates (Sections 3.1 and 3.2) was measured during acidification by an automatic titrator (Section 2.2.1). On meat or fish cubes (Section 3.3), the pH probe was directly inserted into the minced meat. A Schott titrator was also used for this measurement. The pH measurement was repeated twice.

The acid content was determined by NaOH titration of the supernatant obtained after centrifugation (Beckman GS-6R 4, 100 g, 10 min, 20°C) of a homogenate of minced meat cubes + water. Dry matter, W_{DM} , was measured according to the AFNOR standard method (AFNOR, 1968), after drying at 104°C at atmospheric pressure until stable weight. Water content, W_w , was deduced by subtracting the acetic acid content of the meat from W_{DM} (since acetic acid is volatilised during oven drying):

$$W_w = 1 - W_{DM} - W_{HA} \quad (1)$$

Sodium chloride content, W_s , was determined using a chloride analyser (Corning MKII model 926, Sherwood Scientific Ltd, UK) after extraction in 0.3 N nitric acid. All contents (W_i) were expressed in kg kg^{-1} on a wet weight basis.

To determine L-lactic acid content, an enzymatic kit (Enzytec, SCIC Diagnostics GmbH, Viernheim, Germany) was used on filtered extracts (porosity $25 \mu\text{m}$).

2.4. Statistical analysis

All the statistical processing was performed with the Statistica v. 9.1 software (Statsoft, USA).

For all comparisons of means, one-factor analyses of variance were performed to evaluate the significance of the effect of the predictive variable. A post-hoc Tuckey's HSD test was then performed in order to form homogenous mean groups at risk $\alpha < 0.05$.

A covariance study was performed to investigate the effect of immersion time (category predictor) on pH error committed (dependent variable), factoring in pH variability within the immersion duration groups (covariant or continuous predictor, highly correlated with immersion time).

The homogeneous gradient covariance analysis programme was employed after verifying the absence of interaction between the covariant and the independent variable. The mean pH errors committed between the groups were then compared by a post-hoc test.

3. Results and discussions

3.1. Study of pH value responses of a meat homogenate upon acidification by a strong acid

3.1.1. Buffering capacity and acid consumption

Muscle tissue homogenates were subjected to acidification by successive additions of HCl solution until $\text{pH} = 3.5$ was reached. Fig. 1 shows curves relating to the acidification response of 2 of the 7 meat or fish samples studied in this part: turkey breast B and dab fillet.

The acidification curves exhibited two phases (Fig. 1a); a first phase where an initial rapid drop in pH was observed, to a pH of 4.5 to 4.0. This phase was followed by slower fall in pH.

Two concomitant phenomena may explain this behaviour: (i) the initial pH of the matrix (5 to 6) corresponds to a low buffering capacity zone situated between the phosphates and dipeptides domain (neutrality) and the lactate domain ($\text{pH} = 4$) (Kivikari, 1996); in this pH zone, buffering is primarily by the proteins; (ii) acidification of the meat causes progressive denaturation of the proteins. This denaturation is manifested by loss of the proteins' quaternary and tertiary structures, which progressively exposes the "titratable" sites of the proteins (Bendall, 1962; Feeney, 1980; Putnam, 1953; Tanford, 1962). These sites (side carboxyl groups, amines and especially protein imidazolyl) bind the protons and contribute to the buffering capacity. In the case of a so-called "highly glycolytic" meat, when the pH approaches the pK_a of lactic acid, a high buffering capacity is obtained around $\text{pH} = 4$ through the contribution of the lactate/lactic acid pair (in addition to the buffering capacity of carboxylate groups of proteins).

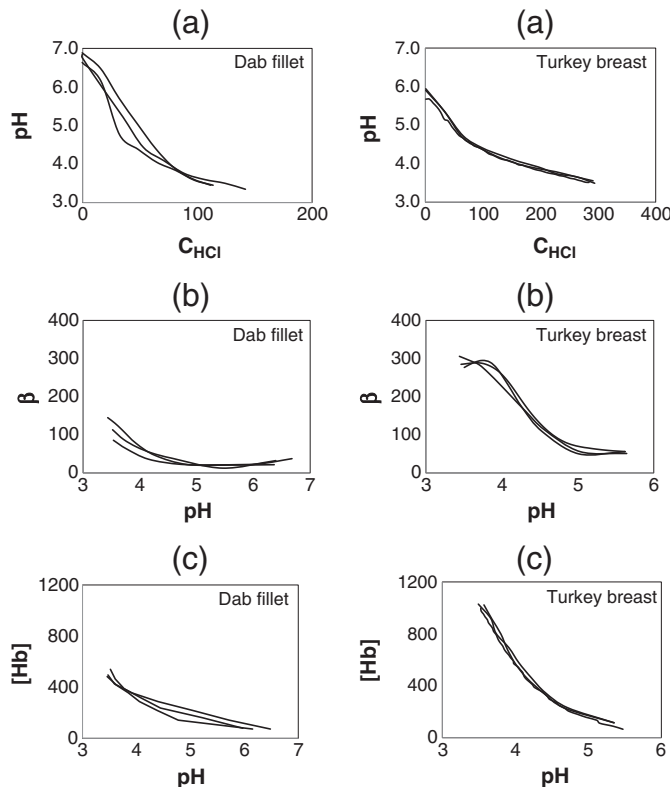


Fig. 1. Hydrochloric acid (0.1 M) acidification of a turkey breast homogenate and a dab fillet homogenate: (a) evolution of pH as a function of C_{HCl} ($\text{mmol H}^+ \text{kg}^{-1}$); (b) evolution of buffering capacity β ($\text{mmol H}^+ \text{pH}^{-1} \text{kg}^{-1}$) as a function of pH; (c) evolution of bound proton concentration $[H_b]$ ($\text{mmol H}^+ \text{kg}^{-1}$) as a function of pH.

Table 1 sets out some characteristic parameters, measured or calculated, of the buffering capacity of the various matrices investigated.

The correlation that could be made between this data enabled grouping of the matrices along the following lines:

- The matrices with a high initial pH and a low lactate content exhibited a low mean buffering capacity. This was the case with dab fillet, and chicken thigh and drumstick. These muscles mainly consist of “dark” muscle fibres. Energy production in these muscles of the living animal is primarily due to aerobic mechanisms (Pösö & Puolanne, 2005; Rao & Gault, 1989). Post-mortem glycolysis is relatively weak, which results in little accumulation of lactic acid.
- The matrices with a low initial pH and a high lactate content exhibited a high mean buffering capacity: poultry breast and beef sirloin. These muscles are rich in white fibres. Post-mortem glycolysis is intense, causing the accumulation of lactic acid. Therefore the meat had a high buffering capacity around $\text{pH} = 4$, which is close to the pK_a of lactic acid. This parameter is important for its technological repercussions in marination. More intense

acid treatments will be required to reduce the pH below 5. Table 1 shows that in the pH range of 5–3.5, 3 to 4 times more acid needs to be supplied to achieve a pH decrease of one unit with poultry breast or beef sirloin than with dab or chicken thigh (β value). This is also illustrated in Fig. 1b. Turkey breast was observed to have a high buffering capacity around $\text{pH} = 4$, whereas dab fillet, low in lactate, had 1/4 to 1/5 of this buffering capacity at this pH.

3.1.2. Quantity of bound protons

Another parameter linked to the evolution of meat pH during acidification is the quantity of bound protons per unit mass of meat at a given pH. The method explained in Section 2.2.1.2 was used to model the $[H_b]$ value over meat dry residue as a function of pH. The polynomial regressions made over the pH range of 5–3.5 enabled $[H_b]$ to be expressed as a function of pH. The coefficients of the polynomials are presented in Table 1 for each of the matrices studied, represented in Fig. 1c for 2 matrices with contrasting characteristics: the highly glycolytic turkey breast, and the dab fillet, very low in lactate. For these two matrices, the $[H_b]$ values exhibited little difference at the start of acidification, whereas the difference widened below $\text{pH} = 4$, in the vicinity of the pK_a of the lactate. Matrices rich in lactate (poultry breast and beef sirloin) had a significantly higher $[H_b]$ value below $\text{pH} = 4$ than the others. This concurs with the fact that significantly more acid had to be added to reach $\text{pH} = 3.5$ for lactate-rich muscles.

3.2. Evolution of pH during acidification by a marination acid (weak acid), and pH prediction

The aim of the pH calculation is to be able to predict the pH reached by a food matrix acidified by a given quantity of marination acid. To this end, homogenate acidification runs were carried out on the 7 matrices, using a 0.5 N acetic acid solution. The additions were stopped when the pH of the reaction medium (homogenate of muscle tissue + deionised water) reached 4. For each acidification repetition and for each matrix, a calculation was performed as per the protocol in Section 2.2.1.3. Hence it was possible, after each addition of acetic acid, to compare the pH observed and the pH value satisfying Eq. (8), using (i) the pK_a of acetic acid, (ii) the acid concentration of the homogenate and (iii) the relation linking the pH and $[H_b]$ for the matrix in question (polynomials from Table 1). Around 300 points were obtained, representing the homogenate pH values after each successive addition of acid. Aggregating this data in the form of linear regression provided an idea of the quality of the pH calculation (Fig. 2).

The mean error on the pH detected for all points was 0.11 ± 0.07 . The error was not due to the pH range, but rather to the error propagation associated with the two acidifications to be performed: (i) HCl acidification to determine the relation between pH and $[H_b]$, (ii) acetic acid acidification to validate the pH calculation method. The principle of using the relation between pH and bound protons, determined using HCl, for each type of meat gave good results for calculating pH in a meat homogenate acidified by a weak monovalent acid.

Table 1

Initial pH (pH_0); L-lactate content; average buffering capacity for pH between 5 and 3.5 (β); and bound proton concentration ($[H_b]$).

| Meat or fish cuts | pH_0 | L-lactate (mmol kg^{-1}) | β ($\text{mmol H}^+ \text{pH}^{-1} \text{kg}^{-1}$) | $[H_b] = a + b\text{pH} + c\text{pH}^2$ ($\text{mmol H}^+ \text{kg}^{-1}$ of dry meat) | | | |
|-------------------|-------------------|--|---|---|-------|-----|-------|
| | | | | a | b | c | R^2 |
| Turkey breast B | 5.84 ± 0.14^e | 92.5 ± 0.5^f | 171 ± 7^{fg} | 8433 | −3187 | 306 | 0.99 |
| Turkey breast A | 5.82 ± 0.05^e | 93.4 ± 1.4^f | 198 ± 21^g | 8147 | −2906 | 260 | 0.96 |
| Beef sirloin | 5.41 ± 0.04^d | 87.0 ± 3.5^f | 149 ± 2^f | 7762 | −2891 | 272 | 0.99 |
| Chicken breast | 6.00 ± 0.08^e | 90.5 ± 3.7^f | 151 ± 1^f | 7357 | −2735 | 259 | 0.99 |
| Chicken drumstick | 6.77 ± 0.13^f | 56.6 ± 1.0^e | 96 ± 5^e | 4306 | −1541 | 145 | 0.96 |
| Chicken thigh | 6.70 ± 0.11^f | 55.0 ± 2.7^e | 101 ± 4^e | 4588 | −1647 | 155 | 0.99 |
| Dab fillet | 6.75 ± 0.13^f | 17.4 ± 1.4^d | 50 ± 9^d | 3122 | −1116 | 106 | 0.81 |

^{defg} Means with the same superscript within the same column do not differ significantly ($p \leq 0.05$). Values are the mean \pm sd ($n = 3$).

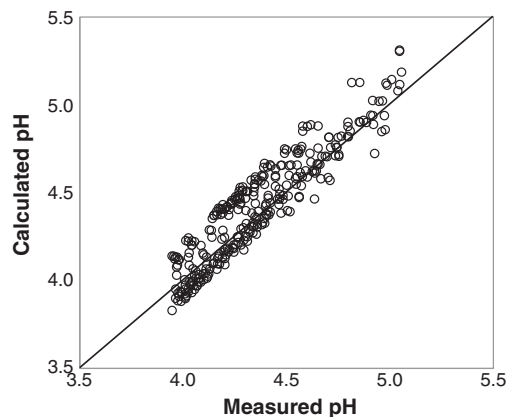


Fig. 2. Comparison between measured and calculated pH for various meat and fish muscle homogenates (turkey breast, chicken thigh, breast and drumstick, dab fillet and beef sirloin) acidified by acetic acid (0.5 N).

3.3. Acidification in an open medium: marination of meat cubes

The second part of this work consisted in testing the homogenate pH calculation method, presented in the previous part, on cubes acidified by immersion in an acidic solution ("marination"). The marination kinetic data for turkey breast batch A, for 0.25 h to 6 h immersion times, in a solution with 0.25 or 1.03 N acetic acid and 0, 0.15, 0.5 and 1.5 N NaCl ($n=40$) was used.

3.3.1. pH calculation

Fig. 3 represents the calculated pH values as a function of the observed pH values. It shows that: (i) for pH values below 4.5, an increasing overestimation of calculated pH in relation to observed pH is seen, and (ii) there was a great dispersion of the points ($R^2=0.70$).

This difference has been mentioned previously (Goli et al., 2011) without taking the analysis further. Statistical analysis of the data from Fig. 3 showed that the salt content was not an influencing factor on pH error ($p>0.5$). Although the pH calculation error increased as the pH of the marinated cubes fell ($p<0.01$), a covariance analysis taking pH as the covariant showed that the immersion time was also highly influential on the error committed ($p<0.01$). Table 2 shows that as the soaking time increases, the lower the observed pH is in comparison with the predicted pH.

This overestimation of pH was as much as 1 pH unit for the longest immersion times, and the most acidic marination solution. The pH calculation using the principle employed on the homogenate is therefore unsatisfactory. The previous part, dedicated to pH prediction in a closed

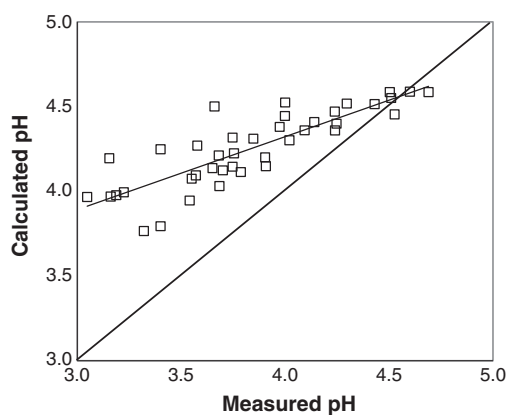


Fig. 3. Comparison between measured and calculated pH for meat cubes (turkey breast) marinated in solutions of acetic acid (0.25 and 1.03 M) and salt (0 to 1.5 M) for durations from 0.25 to 6 h.

Table 2

Error committed in pH calculation; correction of $[H_b]$ value required to obtain an accurate pH calculation; dry matter loss as a function of immersion time of the turkey meat cubes in marinades; fall in $[H_b]$ value at pH = 4 and fall in lactate content as a function of immersion time of the turkey meat cubes in water.

| Time (h) | Immersion in marinades | | | Immersion in water | |
|----------|------------------------|----------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|--|
| | pH error | Correction of H_b required (%) | Dry matter loss (%) ¹ | Fall in $[H_b]$ at pH = 4 (%) | Fall in lactate content (%) ² |
| 0.25 | 0.14 ± 0.06^a | -26 ± 42^a | 15.0 ± 6.1^a | 12 | 25 |
| 0.5 | 0.26 ± 0.06^{ab} | -51 ± 25^{ab} | 16.1 ± 6.1^{ab} | 18 | 33 |
| 1 | 0.38 ± 0.06^b | -65 ± 21^b | 17.5 ± 5.7^{ab} | 15 | 51 |
| 3 | 0.58 ± 0.08^c | -80 ± 14^b | 20.0 ± 6.4^{ab} | 26 | 66 |
| 6 | 0.71 ± 0.08^c | -87 ± 9^b | 23.2 ± 6.4^b | 30 | 70 |

^{abc} Means with the same superscript within the same column do not differ significantly ($p \leq 0.05$). Values are the mean \pm sd ($n=3$).

¹ % of initial dry matter (w/w).

² % of initial lactates (w/w).

medium, showed that the calculation principle was valid, and that the error committed was not influenced by pH. In an open medium, it is proposed that the meat's buffering capacity decreases considerably with immersion time, probably through loss of buffering constituents, such as solubilised proteins and lactate.

3.3.2. Effect of marination on mass variation and substance losses

It is known that immersion of meat in salty and/or acidic solutions causes a leakage of protein constituents to the marination solution (Gault, 1985). Richardson and Jones (1987) demonstrated that proteins are more easily extracted when the pH is above 5, and a low salt concentration promotes solubilisation of sarcoplasmic proteins, whereas myofibrillar proteins can be extracted at high concentrations.

The various matter losses (DMI = dry matter loss) ranged from 15 to 30% of the initial dry matter of the meat subjected to marination (Table 2). Given the high uncertainty of this balance calculation, an upward trend with immersion duration could be seen, without statistical significance.

This value agrees with Gault (1985), who showed that during prolonged marination loss of nitrogen compounds reached 30% depending on pH, with maximum extraction between pH 3.5 and 4. These compounds may be proteins, peptides, substances with significant buffering capacities. On the principle that these substances have a higher buffering capacity than non-extracted structural proteins, this begins to explain the fact that the measured pH values were lower than those obtained by calculation.

3.3.3. Evolution of buffering capacity and impact on pH prediction

Besides the extracted proteins, compounds such as free amino acids, peptides, non-protein nitrogen compounds, minerals, lactate and lactic acid were probably increasingly solubilised with increasing marination time. Consequently, a fall in the meat's buffering capacity might be expected with marination duration. To understand the modifications of buffering capacity during immersion, batches of turkey cubes measuring 1 cm were subjected to immersion treatments in deionised water, for identical times to those employed for acetic acid-salt marination. After treatment the cubes were analysed to determine their buffering and proton binding capacities and dry matter and lactate losses. These results are shown in Table 2.

The lactate loss after 6 h immersion in water was very high (70%) and was proportionally much greater than the overall dry matter loss (23%). Lactate loss, although very small in mass, was approximately 80 mmol kg^{-1} . This is comparable to the difference in the quantity of HCl required to achieve a pH reduction from 5 to 3.5 with a meat immersed for 6 h in water, in comparison with an untreated meat ($160 \text{ vs. } 240 \text{ mmol H}^+ \text{ kg}^{-1}$). Since this molecule has high buffering around

pH = 4, its loss represents a determining factor in the evolution of meat pH during marination by immersion. The fall in $[H_b]$ at pH = 4, after 6 h of immersion in water, was low (30%), around the same magnitude as the loss of mean buffering capacity β . A calculation based on Eq. (12) gave the fall in $[H_b]$ value that would have enabled accurate prediction of the pH observed in the cubes marinated in acetic acid for the various groups (Table 2). For lower pH values, this fall was around 90% of the $[H_b]$ value determined with fresh meat at the same pH.

The hypothesis that in a closed medium (homogenate), molecules with high buffering capacity extracted from the meat in acidic medium remained in the reaction medium, and continued to apply a buffering capacity, which increased as pH fell, may be proposed. Kivikari (1996) showed that the buffering capacity of meat proteins increases with decreasing pH. In an open medium, a protein matrix losing constituents with high buffering capacity, such as lactate, throughout the immersion treatment could respond differently.

However, it is probable that the method of determining the buffering capacity, as well as the quantity of bound protons $[H_b]$, which were based on homogenate titration, led to overestimation of the buffering capacity of a whole meat cube during immersion. Homogenisation could facilitate access by the acid to the titratable sites on the proteins, which make a significant contribution to the buffering capacity. The cubes subjected to marination, by virtue of their integrity, seem to provide the acidic solution with progressive and partial access to their reactive sites over time. This could explain why the pH of the marinated cubes was significantly lower than the theoretical predictions. To our knowledge, no studies have covered loss of meat matrix buffering capacity during acid marination.

4. Conclusion

There were differences in buffering capacity between meat and fish homogenates in the acidic pH zone, in terms of the matrix's proton binding capacity and lactate content. It was possible to predict with a low error (0.1 unit) the pH of muscle tissue homogenates acidified by a weak acid such as acetic acid. Upon marination of meat cubes, calculations based on equilibria of the species in solution were unable to achieve a satisfactory pH prediction, despite the matter transfer balances carried out. The buffering capacity loss of the whole meat matrix, contrary to the homogenate, was quick and intense, to such an extent that the observed pH could be as much as 1 unit less than the pH obtained by calculation, for the longest immersion times studied (6 h). Additional work to identify the nature of the molecules solubilised during marination, and the development of more appropriate measurement methods for determining buffering capacity in a solid medium would constitute a step towards pH prediction during marination. Regarding technological implementation of the marination process, one also needs to take into consideration the accumulation of buffering compounds for their impact on the quality of successive batches if the marinade is reused, particularly with high meat/marinade ratios.

References

- AFNOR (1968). NF V04-401. Viandes et produits à base de viande. Détermination de l'humidité. *Recueil de normes "Produits de l'Agriculture"* (pp. 45–47). Paris, France: Association Française de Normalisation.
- Aktas, N. E., Aksu, M. I., & Kaya, M. (2003). The effect of organic acid marination on tenderness cooking loss and bound water content of beef. *Journal of Muscle Foods*, 14(3), 181–194.
- Aristoy, M. C., & Toldrá, F. (1998). Concentration of free amino acids and dipeptides in porcine skeletal muscles with different oxidative patterns. *Meat Science*, 50(3), 327–332.
- Bendall, J. R. (1962). Some aspects of the denaturation of proteins of meat. *1st ICOMST* (pp. 23–30).
- Bertram, H. C., Kristensen, M., & Andersen, H. J. (2004). Functionality of myofibrillar proteins as affected by pH, ionic strength and heat treatment – A low-field NMR study. *Meat Science*, 68(2), 249–256.
- Cann, J. R., & Coombs, R. O. (1971). Interaction of acetic acid with poly-L-glutamic acid and serum albumin. *Biochemistry*, 10(20), 3707–3712.
- Feeney, R. E. (1980). Overview on the chemical deteriorative changes of proteins and their consequences. *Chemical deterioration of proteins* (pp. 1–47). Washington D. C.: American Chemical Society.
- Gault, N. F. S. (1985). The relationship between water-holding capacity and cooked meat tenderness in some beef muscles as influenced by acidic conditions below the ultimate pH. *Meat Science*, 15(1), 15–30.
- Goli, T., Abi Nakhoul, P., Zakhia-Rozis, N., Trystram, G., & Bohuon, P. (2007). Chemical equilibrium of minced turkey meat in organic acid solutions. *Meat Science*, 75(2), 308–314.
- Goli, T., Bohuon, P., Ricci, J., Trystram, G., & Collignan, A. (2011). Mass transfer dynamics during the acidic marination of turkey meat. *Journal of Food Engineering*, 104(1), 161–168.
- Hamm, R. (1986). Functional properties of the myofibrillar system and their measurements. In B. P. J. (Ed.), *Muscle as food* (pp. 135–199). Orlando (USA): Academic Press.
- Hamm, R., & Deatherage, F. E. (1960). Changes in hydration, solubility and charges of muscle proteins during heating of meat. *Journal of Food Science*, 25(5), 587–610.
- Honikel, K. O. (2004). Chemical and physical characteristics of meat. pH measurement. *Encyclopedia of meat sciences* (pp. 238–242). Oxford: Elsevier.
- Honikel, K. O., & Hamm, R. (1974). Über das Pufferungsvermögen des Fleisches und seine Veränderungen post mortem. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A*, 156(3), 145–152.
- Howat, P. M., Sievert, L. M., Myers, P. J., Koonce, K. L., & Bidner, T. D. (1983). Effect of marination upon mineral content and tenderness of beef. *Journal of Food Science*, 48(2), 662–663.
- Kivikari, R. (1996). *Buffering capacity of meat*. PhD thesis. Unpublished Academic Dissertation, University Press, Helsinki.
- Lebert, A., & Daudin, J. D. (2009). Measurement and prediction of pH and aw of meat products. *Conference proceedings of the 55th ICOMST* (pp. 829–833). Copenhagen, Denmark.
- Lewis, G. J., & Purslow, P. P. (1991). The effect of marination and cooking on the mechanical properties of intramuscular connective tissue. *Journal-of-Muscle-Foods*, 2(3), 177–195.
- McCarthy, M. J., Heil, J. R., Krugermann, C., & Desvignes, D. (1991). Acid requirement for pH modification of processed foods. *Journal of Food Science*, 56(4), 973–976.
- Medynski, A., Pospiech, E., & Kniat, R. (2000). Effect of various concentrations of lactic acid and sodium chloride on selected physico-chemical meat traits. *Meat-Science*, 55(3), 285–290.
- Offer, G., & Knight, P. (1988). The structural basis of water-holding in meat part 2: Drip losses. In R. Lawrie (Ed.), *Developments in meat science, Volume 4*. (pp. 172–243). London: Elsevier Applied Science.
- Ogata, H. Y., Konno, S., & Silverstein, J. T. (1998). Muscular buffering capacity of the parr and smolts in *Oncorhynchus masou*. *Aquaculture*, 168(1–4), 303–310.
- Okuma, E., & Abe, H. (1992). Major buffering constituents in animal muscle. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 102(1), 37–41.
- Pösö, A. R., & Puolanne, E. (2005). Carbohydrate metabolism in meat animals. *Meat Science*, 70(3), 423–434.
- Puolanne, E., & Kivikari, R. (2000). Determination of the buffering capacity of postrigor meat. *Meat Science*, 56(1), 7–13.
- Putnam, F. W. (1953). Protein denaturation. In H. Neurath (Ed.), *The proteins: Chemical biological activity and methods* (pp. 807–892).
- Rao, M. V., & Gault, N. F. S. (1989). The influence of fibre-type composition and associated biochemical characteristics on the acid buffering capacities of several beef muscles. *Meat Science*, 26(1), 5–18.
- Richardson, R. I., & Jones, J. M. (1987). The effects of salt concentration and pH upon water-binding, waterholding and protein extractability of turkey meat. *International Journal of Food Science and Technology*, 22, 683–692.
- Svensson, B., & Tornberg, E. (1998). Prediction of acid induced pH decrease in meat. *Conference proceedings of the 44th ICOMST* (pp. 506–507). Barcelona, Spain.
- Tanford, C. (1962). The interpretation of hydrogen ion titration curve proteins. *Advances in protein chemistry*, Vol. 17. (pp. 69–165): Academic Press.
- Yusop, S. M., O'Sullivan, M. G., Kerry, J. F., & Kerry, J. P. (2010). Effect of marinating time and low pH on marinade performance and sensory acceptability of poultry meat. *Meat Science*, 85(4), 657–663.

3.3. Interaction sel-acide dans la modification de texture

3.3.1. Introduction et synthèse des résultats marquants

Après avoir étudié l'évolution du pH et les transferts de matières au cours du marinage acide, il nous a semblé important de corrélérer les données d'imprégnation en sel et acide avec les modifications de propriétés fonctionnelles de la viande en cours de marinage. La littérature ne comporte en effet, dans le cas de traitement acide en présence de sel, que des données à l'équilibre à l'issue de traitements très longs (24 ou 48 heures).

Les résultats présentés dans l'article n°3 sont relatifs à l'évolution des caractéristiques et propriétés de cubes de poitrine de dinde traités pendant des durées courtes à moyennes (5 à 360 minutes) en solutions binaire eau-acide ou ternaire eau-acide-sel, au moyen de solutions permettant d'obtenir des concentrations en solutés et pH rencontrés couramment dans des produits marinés (0 à 0,25 M, pH 4 à 5).

Durant le marinage des transferts rapides de solutés se produisent de la marinade vers la viande. Si on a pu observer des gains de matière au marinage significatifs dès 20 minutes d'immersion, seules les durées longues (360 min) se sont traduites par un bilan matière global (marinage + cuisson) supérieur à celui de la viande non marinée.

Dès les premières minutes d'immersion, un durcissement a pu être observé, indépendamment de la présence de sel dans la marinade. Pour des durées plus importantes, et uniquement en absence de sel, un attendrissement significatif s'opère par rapport au témoin non mariné. Les explications se trouvent probablement dans les mécanismes suivants qui se combinent ou se compensent selon les conditions locales :

- La proximité du pH de la viande au pH_i est déshydratante et raffermissante.
- La présence de sel, en-deçà du pH_i , s'oppose aux effets de l'acide, par renforcement des interactions protéines-protéines.

Lors de la cuisson, le renforcement de la cohésion des tissus conjonctifs et la baisse de CRE des protéines myofibrillaires provoqués par la combinaison sel-acide se traduisent par un raffermissement et une déshydratation de la matrice protéique.

Les points saillants de cet article sont les suivants :

- Des cubes de poitrine de dinde ont été marinés en solutions binaires eau/acide ou ternaires eau/acide/sel.
- Des prélèvements ont été faits au cours du temps pour disposer d'échantillons de taux d'imprégnation et de pH variés.

- Les gains de masse et les propriétés mécaniques sont sous forte influence de la durée de marinage et du pH.
- En présence d'acide, le sel agit négativement sur l'attendrissement et le rendement massique au marinage.

3.3.2. Texte de l'article soumis en 2012 à la revue Meat Science : Influence of sodium chloride and pH during acidic marination on mechanical properties of turkey breast meat.

Influence of sodium chloride and pH during acidic marination on water retention and mechanical properties of turkey breast meat.

Sent to Meat Science for publication (April 2012)

T. Goli, P. Bohuon, J. Ricci, A. Collignan

Abstract

Turkey breast meat cubes (1.7 cm³) underwent marination in water-acetic acid or water-NaCl-acetic acid solutions. The transfers of water, salt and acid were measured, and texture was assessed on cooked meat by texture profile analysis and shear test. While significant mass gains can be observed during marination from 20 minutes' immersion onwards, only long durations (360 min.) produce an overall matter balance (marination + cooking) greater than that of non-marinated meat. From the first minutes of immersion, these transfers cause hardening, regardless of the presence of salt in the marinade. For longer durations, only in the absence of salt is significant tenderizing seen in comparison to the non-marinated control. This dynamic effect appears to be due on the one hand to passing the isoelectric pH of the meat during acidification, and on the other hand to setting up antagonistic mechanisms breaking down or reinforcing connective tissues by acid and salt respectively. The high degree of tenderization observed in a water-acid solution can be explained partly by dilution of the fiber load per section unit due to protein solubilization.

Key words: Turkey meat; Marination; Acetic acid; Salt; Mass transfer, tenderness, TPA

1. Introduction

Among the most important qualities in meat quality appraisal by the consumer are tenderness and juiciness (Ergezer & Gokze, 2011; Kuypers & Kurth, 1995; Risvik, 1994; Wood, Nute, Fursey, & Cuthbertson, 1995). For decades scientists and manufacturers have been studying the determinants of tenderness and juiciness throughout the industry, particularly during maturation of muscle, as well as treatments or preparations that can improve the culinary qualities of meat (Xiong, 2005). By virtue of their specific behavior, collagen, the main constituent of perimysium, and the myofibrillar system, are the main substances responsible for the hardness modifications observed in the course of cooking meat (Dransfield, 1977; Lepetit, 2008; Lepetit, Grajales, & Favier, 2000; Purslow, 2005). However, many authors agree in attributing to connective tissue proteins, particularly perimysium, a major role in meat texture (Kuypers & Kurth, 1995; Lepetit, 2008; Lepetit & Culioli, 1994; Purslow, 2005). Although there are many means of appraising tenderness, sensorial analysis remains the commonly employed method, often supplemented or replaced by instrumental measurements of mechanical properties. Among these devices, the Warner-Bratzler cell is often employed to measure fiber shear resistance, while the so-called texture profile analysis (TPA) imitative method provides good correlations with sensorial descriptors (Purchas, 2004; Ruiz de Huidobro, Miguel, Blázquez, & Onega, 2005; Szczesniak, Brandt, & Friedman, 1963). Marination is a very widespread process for flavoring meat and improving its texture (Aktas, Aksu, & Kaya, 2003; Koohmaraie, Kent, Shackelford, Veiseth, & Wheeler, 2002; Whipple & Koohmaraie, 1993; Yusop, O'Sullivan, Kerry, & Kerry, 2010). Upon immersion, the salt and acid present in the solution impregnate the tissues, causing a very steep fall in pH, which results in significant hydration of the proteins if the salt content of the solution is less than 0.3 M (Goli, Bohuon, Ricci, Trystram, & Collignan, 2011). The mass increase may be 1 kg kg⁻¹ or more within a few hours (Gault, 1985; Goli et al., 2011; Rao, Gault, & Kennedy, 1989). Moreover, the increase in tenderness observed is correlated with the increase in WHC (Gault, 1985). These changes can be explained by a set of physico-chemical mechanisms, primarily attributed to the fall in pH, the increase in ionic force and the particular role of chloride ions. In an acidic medium, the hardness of the connective tissues decreases through enzymatic mechanisms (Hwang, Lin, & Chou, 2000; Saunders, 1994) or through decreased electrostatic interactions between myofibrillar protein chains (Wenham & Locker, 1976). In case of swelling, tenderization can be explained by “dilution” of the fibrous structure per section unit of the tested sample (Offer & Knight, 1988). Furthermore, the thermal

denaturation temperature of muscle proteins is reduced by acidification (Horgan et al., 1991; Kijowski, 1993). In addition to the damage caused to connective tissues, the fiber hydration caused by the fall in pH is maintained after cooking, which contributes to tenderization (Gault, 1985). However, few works have been devoted to studying the combined effects of salt and acid on the functional properties of meat. Hamm et al. (1961) demonstrated that below pH_i , (Isoelectric pH) the presence of salt reduces the intensity of electrostatic repulsion between positively charged groups on the structural proteins. Hence a fall in hydration and in water holding capacity (WHC) is observed. Medynski et al. (2000) demonstrated on minced meat an increase in exudation when cooking in the simultaneous presence of lactic acid and NaCl. Ergezer and Gokze (2011) demonstrated on turkey breast that in the presence of salt, though the fall in pH is moderate, significant tenderization is not observed. Kijowski and Mast (1993), conversely, demonstrated the tenderizing effect of moderate acidification in the presence of low salt concentrations (2%). Chang et al. (2010) demonstrated on beef that the moderate presence of salt (2%) causes hardening (assessed by Texture Profile Analysis or TPA), in the presence of lactic acid or acetic acid (1.5%), whereas salt alone or acid alone has a tenderizing effect. These results were obtained on raw meat. Moreover, these changes were observed in the particular case of equilibrium after 24 hours' immersion, for a single concentration of salt or acid. The objective of this work is to measure the impact of marination treatment in the presence of acetic acid and salt on the functional properties (marination mass gain, cooking losses, tenderness after cooking) of turkey meat, taken as a model protein structure. Matter transfer (NaCl, acid, water), as well as meat composition modifications (lactate, proteins) and pH modifications were analyzed.

2. Materials and methods

2.1. Raw material

3 batches of postrigor turkey breast meat (labeled A, B & C) were purchased at different times from a local butcher. They were characterized by a pH of 5.91 ± 0.13 and titratable acidity of 0.12 ± 0.01 mol H^+ per kg of meat. The dry matter and content in protein, fat, ash and total collagen were respectively 26.6 ± 1.0 , 24.4, 0.8, 1.7 and 0.4, expressed in kg per 100 kg of meat. The lactate and chloride content were respectively 0.12 mol kg^{-1} and 0.02 mol kg^{-1} . These analyses demonstrated that turkey breast is a meat very low in collagen,

very poor in lipids and rich in white fibers, with glycolytic metabolism (low pH bas and rich in lactate).

The turkey breasts were cut into ≈ 0.20 kg units, vacuum packed and immediately deep-frozen in an air-blast freezer (Facis, France), and stored for less than 2 months at -18°C until use. The frozen cuts were thawed by immersion inside plastic bags under water at 20°C for 15 min. before the experiment. The marinades were prepared from 100% acetic acid (Merck, Germany), ultra-pure sodium chloride (Acros Organics, Belgium) and deionized water.

2.2. Experimental setup and methods

After thawing, the meat was sliced transversally into 12 mm thick strips. From these strips, cubes measuring 12 mm on each side were manually cut for marination in acetic acid and salt aqueous solution. Batches of 45 meat cubes (about 0.080 kg) were immersed in glass jars filled with 0.8 l of marinade. Each immersion batch (jar) was prepared in triplicate (meat batches A, B & C) at ambient temperature ($20 \pm 2^{\circ}\text{C}$) on an oscillating agitator (Heidolph Promax 2020, Germany). Each group of three similar jars corresponded to one particular combination of time, acetic acid molarity and sodium chloride molarity. The marination durations and concentration of the marinades were chosen based on previous experiments (Goli et al., 2011) and on preliminary tests, in order to obtain mean pH in the marinated cubes on either side of the isoelectric pH (pH_i) and with a varied degree of swelling. Marination runs were carried out for 5, 20 or 360 min. in solutions comprising water, NaCl (0.25M) and acetic acid (0.25M) or acetic acid alone (0.25M). The control was non-marinated meat. After treatment, the cubes were removed from the marinade, gently drained and then weighed jar by jar for marination mass variation calculation. The used marinade was kept apart for determining the lactate content (only for 360-minute runs), the pH and the proteins content (for all times). Only one determination was carried out on the mix of the 3 used marinades corresponding to the 3 meat batches A, B & C. To allow the cubes to reach equilibrium after treatment, they were left to rest at 4°C between 16 and 20 h before being analyzed.

A calculation made after Ficks law and solved per Comsol MultiphysicsTM (Version 3.1. Comsol Inc., Stockholm, Sweden) demonstrated that for each marination duration (5, 20 or 360 min.), after the rest time observed, the cubes were homogeneous in terms of the salt and acetic acid concentrations. For the salt and acetic acid diffusion coefficients we adopted $5 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ (Kohli & Gros, 2008; Vestergaard, Andersen, & Adler-Nissen, 2007)

Since the fall in pH was very steep, the pH profile was assumed to be homogeneous at the end of the rest time.

After the rest phase, each of the 24 groups of treated cubes (3 lots of meat x 4 immersion times x 2 types of marinade) was divided into two parts: one part intended for chemical analyses, and one part intended for cooking and measurements of functional properties. The analyses performed on marinated cubes were: pH, dry matter, salt content and titratable acidity (on each of the 24 groups) and lactic acid content, total collagen content, and ash content (on each of the 8 groups: 4 times x 2 types of solution, with meat batches A, B and C mixed prior to analysis). The protein contents were measured after cooking on each of the 8 groups (4 times x 2 types of solution). From the different contents, we deduced the gains as a proportion of initial mass (before marination) according to the method described in the article by Goli et al. (2011). The functional properties were evaluated after cooking, via the normal consumption method of marinated meats (Purchas, 2004). These measurements were taken individually on the 24 treated groups of meat. The cooking loss (CL , in kg of exudate per 100 kg of marinated meat) was calculated as the cube mass loss when boiled inside a plastic sachet in water at 80°C for 2 min. (time taken for the core to reach 80°C). An overall balance (GMG in kg per 100 kg of initial meat) of matter gain following a sequence of marination and cooking was calculated as follows:

$$GMG = (1 + MG)(1 - CL) - 1 \quad (1)$$

Where MG is the marination mass gain in kg for 100 kg of raw meat.

Each meat batch A, B and C was weighed separately before and after marination, before and after cooking. The texture was evaluated by uniaxial compression (TPA) and shearing (Craft knife) after cooking, with the cubes cut to dimensions of 1 cm.

A non-marinated control sample was subjected to all the analyses for each of the 3 meat batches A, B and C.

2.3. Measurements

2.3.1. Chemical analysis

The dry matter, W_{DM} , expressed in kg kg^{-1} , was measured as per the AFNOR standard method (NF V04-401), by drying at 104°C at atmospheric pressure until stable weight. The water content, W_W , expressed in kg kg^{-1} , was deduced by subtracting the acetic acid content (W_{HA} , in kg kg^{-1}) of the meat from W_{DM} (since acetic acid evaporates during oven drying):

$$W_W = 1 - W_{DM} - W_{HA} \quad (2)$$

For pH determination, the probe was directly inserted into the minced meat (Schott Titroline Easy + Schott N52A pH probe, Germany). Each pH measurement was repeated 3 times. The

sodium chloride content, W_s , was determined using a chloride analyzer (Corning MKII model 926, Sherwood Scientific Ltd, UK) after extraction in 0.3 N nitric acid for 1 h. The lactate content was determined by HPLC (Biorad HPX87H H^+ column, 210 nm UV detector) after water extraction and centrifugation at 20°C. On the marinated meat, acetic acid content was determined by subtracting lactate content from titratable acidity (NaOH titration of the supernatant obtained after centrifugation) of a homogenate of minced meat + water). The proteins content of the meat and the solutions was determined from the nitrogen content, as per Kjeldahl's method (AFNOR NF V04-407), using a conversion factor of 6.25. The total collagen was determined as per standard AFNOR NF 04-415 after colorimetric determination of the hydroxyproline, applying a conversion factor of 8.

2.3.2. Texture measurements

Texture profile analysis (TPA) tests were carried out as described by Bourne (1978) with some modifications. Cubes measuring 1 cm on each side were cut after cooking the marinated meat. TPA tests were performed with a TA-XT+ Texture Analyzer (Stable Micro Systems, UK) at room temperature ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) using a 50 kg load cell. A compression plate of 50x38 mm was used. Meat cubes were placed on the base plate with fiber direction perpendicular to the compression axis. The following experimental conditions were selected for all measurements: pretest speed 3 mm/s, test speed 1 mm/s and post-test speed 3 mm/s; compression ratio 80%; rest period of 5 s between the two compressions. The probe returned to the trigger point before beginning the second compression. After the second cycle, the probe returned to its initial position. The mechanical properties deduced from stress-strain plots were: *hardness* (maximum force of the first compression, in g), *cohesiveness* (ratio of work between the second compression and the first, adimensional), *springiness* (recovery rate of sample height between two compressions, adimensional), *chewiness* (overall resistance to chewing, in g = *hardness* \times *cohesiveness* \times *springiness*), and *resilience* (ability of the first compression to reduce the work of the second compression, in units of work: g.mm = half the difference between the areas under the curves of the 2 successive compressions). The *hardness* variable was also expressed taking into account variation in protein content (*hardness corr.*), due to any deformations and to losses through solubilization in the immersion medium, using the equation below:

$$\text{hardness corr.} = \text{hardness} \cdot W_p^0 / W_p^i \quad (3)$$

Where W_p^0 , is the proteins content of the control (kg kg^{-1}) and W_p^i the proteins content of the marinated sample in question (kg kg^{-1}).

Shear force tests were performed with the same texture analyzer at room temperature using a 5 kg load cell. A Craft blade type cell was used, equipped with cutter blades (Stanley, Belgium) mod. 1992, length 61 mm, and thickness 0.61mm. The blades were changed after each meat batch (= 10 cubes). The meat cubes were placed on the support tool with the fibers perpendicular to direction of cell strain. The support base allowed deformations of the sample in the fiber axis only. The following experiment conditions were selected for all measurements: pretest speed 3 mm/s, test speed 0.83 mm/s and post-test speed 3 mm/s; compression ratio 90%. The properties deduced from the stress-strain graphs were maximum force recorded during displacement (Fmax, in g), and the total work (total surface area under the stress-strain curve at the end of displacement, in g.mm). The compression ratio was selected after preliminary tests, which demonstrated a high discriminating capacity in our experimental region.

All properties were calculated from 30 replicates of each sample (10 of each meat batch A, B and C).

2.4. Statistical analysis

The software Statistica 9.1 (Statsoft, USA) was used to compare the responses to the various treatments (marinade duration and composition), by 1-factor variance analysis, possibly followed by a post-hoc Duncan's multiple mean comparison test. For each variance analysis, the following checks were performed: Hartley's homogeneity of statistical variance (F-max), Cochran (C) and Bartlett (*Chi*-squared test), normality of residue distribution (Henry's straight line), and similarity of crude residue spread for each estimated mean value.

3. Results

3.1. Matter transfer and evolution of meat composition

3.1.1. Salt and acid transfers during marination

Figure 1 shows the composition of turkey cubes immersed for 5, 20 or 360 min. in acid or salt-acid solution.

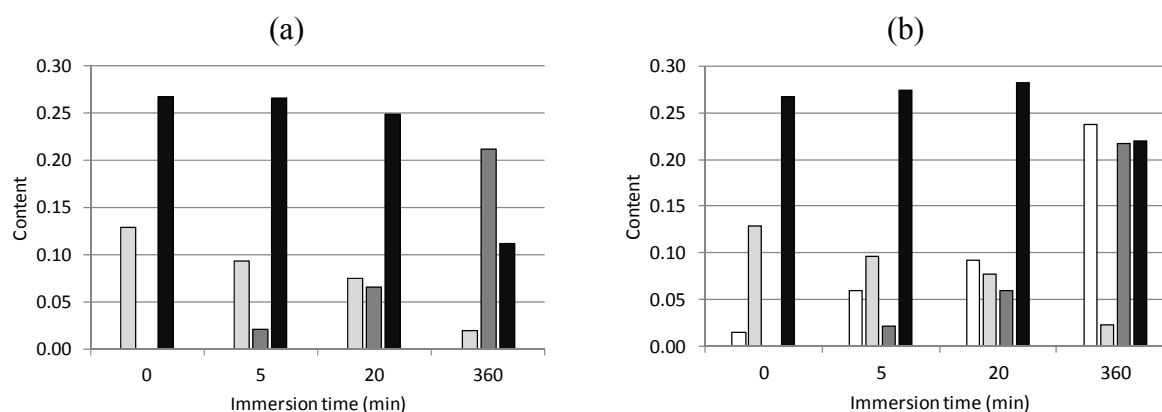


Figure 1: Evolution of concentration (M) in \square salt, \square lactate, \square acetic acid and \blacksquare protein content (kg kg^{-1}) of marinated turkey breast cubes (1.7 cm^3) as a function of immersion time in (a) water-acetic acid (0.25 M) solution, or (b) in water-acetic acid (0.25 M)-salt (0.25 M) solution.

Impregnation with salt and acid occurs quickly, since in 20 min. the mean concentrations reached in the cubes represent respectively one third and one-quarter of the immersion solution concentrations. At 360 min., equilibrium between the meat and the immersion solution is reached for the acetic acid and salt concentrations, i.e. approximately 0.23 M. This data is in agreement with that obtained by Goli et al. (2011) within a region of concentrations from 0 to 1.5 M.

The endogenous lactic acid content, initially 0.12 M, falls steeply, down to around just 0.02 M at 360 min. Lactic acid loss is around 35% of the initial quantity after 5 minutes' immersion, and 85% after 360 min. The losses do not differ significantly according to whether marination is performed with or without salt present. These are high losses, of the same order of magnitude as those observed by Goli et al. (2012) during the immersion of turkey breast cubes in water, (25% at 15 min. and 70% at 360 min.).

3.1.2. Evolution of pH during marination

The mean pH of the cubes falls abruptly, dropping by one unit in the first 5 minutes, whereas it drops by approximately 2 units in 360 minutes (table 1.).

Table 1: (a) evolution of the pH of marinated meat, (b) difference between pH and pH_i^* in the meat and (c) difference between pH of the meat and pH of the immersion solution after marination. (The standard deviations all have a value of equal to or less than 0.1 units)

| Treatment | Time (min.) | pH_m^a | $pH_m - pH_i^b$ | $pH_m - pH_{sol}^c$ |
|------------------------------------|----------------|----------|-----------------|---------------------|
| Control | | 6.1 | +0.9 | 3.2 |
| Water-acetic acid solution | 5 | 5.1 | -0.1 | 1.9 |
| | 20 | 4.6 | -0.6 | 1.2 |
| | 360 | 4.0 | -1.2 | 0.2 |
| Water-acetic acid-salt solution | 5 | 5.1 | +0.9 | 2.0 |
| | 20 | 4.7 | +0.5 | 1.4 |
| | 360 | 3.9 | -0.3 | 0.2 |

*base of pH_i : 5.2 for water-acid solution, 4.2 for water-acid-salt solution.

This steep initial fall is due to the reduction in buffering capacity of the meat due to protein and lactate leaks, combined with the weakness of the meat's buffering capacity in the pH zone 6 to 4.5 (Goli et al., 2012; Puolanne & Kivikari, 2000).

The pH does not differ significantly according to whether marination is performed in a solution with or without salt. The experiment conditions provide a variety of differences between the meat pH and the isoelectric pH of the myofibrillar proteins (pH_i), ranging from -1.5 (360 min., water-acid solution) to +0.6 (5 min., water-acid-salt solution). The pH_i taken as a reference in a solution containing salt is the mean pH_i of the myofibrillar proteins (≈ 5.2) minus 1 unit, according to Hamm and Deatherage (1960), and Niinivaara and Pohja (1954).

At 360 min., the meat pH is very close to that of the solution (+0.2). We noted that the pH of the solution, despite the high salt/meat ratio (10/1), increased by approximately 0.8 units, probably because of solubilization of buffering substances (lactate and proteins). This phenomenon was reported by Gault (1985).

3.1.3. Protein losses

The evolution of proteins content is represented in figure 1. This content undergoes a significant decrease only after 20 min., reaching 11% (w/w) for 360 minutes' immersion in water-acid solution. This fall is due both to swelling of the cubes (cf. Fig. 2) and to actual protein loss to the immersion solution. A calculation factoring in variation in cube mass and variation in proteins content shows that these losses represent 11% and 22% of the initial proteins respectively, after immersion in solutions with or without salt (table 2).

Table 2: evolution of protein content in cooked meat, W_P^i , and protein loss, PL , as a function of immersion time and type of solution.

| Treatment | Time (min.) | W_P^i (kg/100 kg of meat) | PL (kg/100 kg of initial proteins) |
|------------------------------------|----------------|-----------------------------------|---|
| (Raw meat) | | (24.4) | - |
| Control (cooked) | | 26.7 | - |
| Water-acetic acid solution | 5 | 26.5 | 2.0 |
| | 20 | 24.8 | 1.0 |
| | 360 | 11.1 | 22.0 |
| Water-acetic acid-salt solution | 5 | 27.4 | 0.0 |
| | 20 | 28.2 | 4.0 |
| | 360 | 22.0 | 11.0 |

The balance of the proteins content of the solutions, which is around 0.3 and 0.6% respectively in solutions with or without salt after 360 minutes' immersion, confirms the protein loss values from the meat observed in the present study. This data confirms the observations by Gault (1985), according to which extraction of nitrogen compounds may reach 30% in water-acid solution, with maximum extraction between pH 3.5 and 4. The presence of salt in combination with the fall in pH seems to reduce the protein extractibility, which is 2 times less under our experiment conditions than with marination in water-acid solution. The very high swelling in water-acid solution (0.8 kg kg^{-1}) is the result of the combination of electrostatic repulsions and weakening of structural proteins, which is manifested by slackening of the meat. Myosine, the main muscle protein, becomes soluble and readily extracted by this slackening of the matrix. This phenomenon has been described by several authors, with salt or acid present non-simultaneously (Knight & Parsons, 1988; Offer et al., 1989). A similarity is observed in the action of salt and acid at low concentration: solubilization of some of the actomyosin proteins and collagen, in correlation with the disappearance of the A fiber bands and Z disks, and a slackening of the muscle structure. We can make the hypothesis that in the simultaneous presence of salt and acid, the electrostatic repulsion forces being at their minimum, the cohesion of the matrix is reinforced, which reduces the solubilizing role of the marinade.

The transfer balances of fatty matter, mineral matter and collagen reveal no significant values, and therefore are not shown.

3.2. Modification of functional properties

3.2.1. Matter balance during marination and cooking of turkey meat cubes

Figure 2 shows the mass gains or losses due to marination (MG) or cooking (CL), as well as the overall balance (GMG) calculated using equation (2).

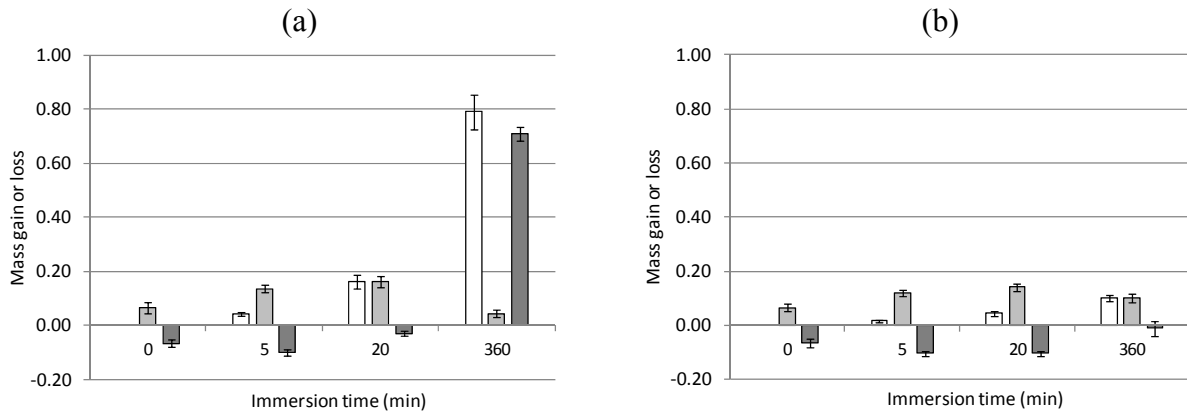


Figure 2: □ Mass gain at marination (MG , kg/kg of raw meat), □ cooking loss (CL , kg/kg of uncooked marinated meat) and ■ global mass gain (GMG , kg/kg of raw meat) of turkey breast meaty cubes (1.7 cm^3) as a function of immersion time in (a) water-acetic acid (0.25 M) solution, or (b) in water-acetic acid (0.25 M)-salt (0.25 M) solution.

In water-acid solution, the mass gain is high from 20 min. (0.15 kg kg^{-1}), reaching 0.8 kg kg^{-1} at 360 min. This result complies with the observations by Gault (1985), and Rao and Gault (1990), who reported significant swelling on beef at pH below 4.5, reaching a maximum of 1 kg kg^{-1} . However, this data was determined, like most works on acidic marination, after very long immersion durations (48 h).

For a solution containing salt, marination results in low mass gains, of less than 0.1 kg kg^{-1} , which complies with the results of Goli et al. (2011). A balance determined at 360 minutes' immersion based on variations in mass and in water, salt, acid and proteins content, shows that the water gain is roughly equal to the mass gain (i.e. approximately 10% of the mass of meat undergoing marination). The sum of the acid and salt gains ($\approx 0.03 \text{ kg kg}^{-1}$) is compensated for by protein loss. These results confirm that in the case of the simultaneous presence of salt and acid in the marinade, 0.2 to 0.3 M of salt represents a threshold concentration, beyond which a state of turkey breast muscle hydration occurs (Goli et al., 2011). According to these authors, mass losses are observed for all salt molalities greater than 0.3 for acetic acid concentrations of up to 1 molality. The results obtained here confirm these

previous works, insofar as the mass gains for the same duration are always in favor of marination in water-acid solution.

The difference between the meat pH and pH_i was suggested by Hamm (Hamm & Deatherage, 1960) as a factor for increase in water holding capacity and protein hydration. In water-acid solution, this phenomenon is very clear. In water-acid-salt solution, this trend is only confirmed for the longest duration. 5 and 20 minute times are tricky to analyze, insofar as the mass gains in marination are low, and these durations are insufficient to obtain cubes homogenous in terms of pH and concentrations (the weighing for calculating the *MG* is performed immediately after the immersion period).

The cooking losses (*CL*) are greater than for the control with all the marination treatments, except in the case of water-acid treatment at 360 min. (Fig. 2).

It is known that upon moderate heating of the meat, the muscle and connective fibers shrink and expel exudate (Tornberg, 2005).

The overall mass balance of marination combined with cooking (*GMG*) is positive only in case of prolonged marination in water-acid solution (Fig. 2). For this sample, the balance is very high (0.7 kg kg^{-1}) in view of the combination of the highest marination swelling (0.79 kg kg^{-1}) and the lowest cooking loss (0.05 kg kg^{-1}) of this study. For all other samples, the balance is negative or zero since the marination mass gain ($\approx 0.1 \text{ kg kg}^{-1}$) is the same level as the cooking loss, or less.

Short-term treatments (5 and 20') result in negative balances (-0.03 to -0.1 kg kg^{-1}), with the cooking losses exceeding the marination mass gains.

3.2.3. Mechanical properties

Table 3 brings together the texture variables from the double compression texture profile analysis (TPA) and the shear test (SF90) on the treated cubes.

3.2.3.1. Texture Profile Analysis

All of the TPA variables reflect the fact that short-term treatments (5 and 20 min.) cause hardening of the meat in comparison to the control, whereas the meat is tenderized in the case of 360 minutes' marination. For this reason, we graphically represented only the *hardness* variable in figure 3, which along with *springiness* is the variable best correlated with sensorial perception (Meullenet, Lyon, Carpenter, & Lyon, 1998).

Water-acid-salt treatment generally results in firmer products. However, for a 5 minute duration, water-acid treatment results in a firmer meat (*cohesiveness* and *chewiness*), not

significantly different from treatment in solution containing salt (*hardness*, *resilience* and *springiness*). The treatment which results in the firmest meat is the 20 minute treatment in a water-acid-salt solution. (see table 3)

Table 3: Mechanical properties of marinated and cooked turkey breast cubes (1.7 cm³). Marination for 5, 20 or 360 min. in water-acetic acid (0.25 M) solution; or in water-acetic acid (0.25 M)-salt (0.25 M) solution. SF90: shear force at 90% of sample's height.

| Treatment | Texture Profile Analysis (TPA) | | | | | Shear Force (SF90) | |
|------------------------------------|--------------------------------|---------------------|--------------------|-----------------------------|-------------------------|--------------------|-----------------------|
| | <i>Hardness</i> (g) | <i>Cohesiveness</i> | <i>Springiness</i> | <i>Resilience</i> (g mm) | <i>Chewiness</i> (g) | <i>Fmax</i> (g) | <i>Work</i> (g mm) |
| Control | 8618 ^c | 0.39 ^c | 0.39 ^d | 4853 ^{bc} | 1309 ^d | 784 ^d | 3081 ^d |
| <i>Water-acetic acid sol.</i> | | | | | | | |
| 5 min | 11567 ^b | 0.48 ^a | 0.43 ^b | 4945 ^{bc} | 2411 ^b | 1110 ^b | 3957 ^c |
| 20 min | 10946 ^b | 0.48 ^a | 0.40 ^{cd} | 4795 ^{bc} | 2186 ^{bc} | 989 ^c | 4112 ^{bc} |
| 360 min | 1883 ^d | 0.25 ^d | 0.27 ^e | 1403 ^d | 139 ^e | 365 ^f | 1865 ^f |
| <i>Water-acetic acid-salt sol.</i> | | | | | | | |
| 5 min | 10785 ^b | 0.43 ^b | 0.42 ^{bc} | 5260 ^b | 1998 ^c | 1132 ^b | 4466 ^b |
| 20 min | 13588 ^a | 0.48 ^a | 0.45 ^a | 6123 ^a | 2988 ^a | 1331 ^a | 5152 ^a |
| 360 min | 7855 ^c | 0.42 ^b | 0.42 ^{bc} | 4355 ^c | 1418 ^d | 506 ^e | 2453 ^e |

Means with the same superscript within the same column do not differ significantly. (n=30 for each mean: mix of 10 cubes of 3 different meat batches, $p < 0.05$).

Long duration treatment in a water-acid solution results in the tenderest product, approximately 4 times more tender than the control (for *hardness*, i.e. 2000 g vs. 8500 g). A proteins content correction (fig. 3b) via equation (3) does not change the profile, even if the *hardness* amplitude is slightly decreased. So it seems that for the sample treated for 360 min. in water-acid solution, the tenderization is due to actual weakening of the structural proteins, rather than only a reduction in the number of fibers per section unit perpendicular to the direction of the fibers. The TPA method is an imitative method producing good correlations with sensorial perception (Szczesniak, 1963). So these results manifest the fact that: (i) short treatments (5 and 20 min.) lead to products perceived as harder than the control, (ii) long water-acid-salt treatment is not perceived harder than the control, and (iii) long water-acid treatment should be perceived as more tender than all the other samples tested.

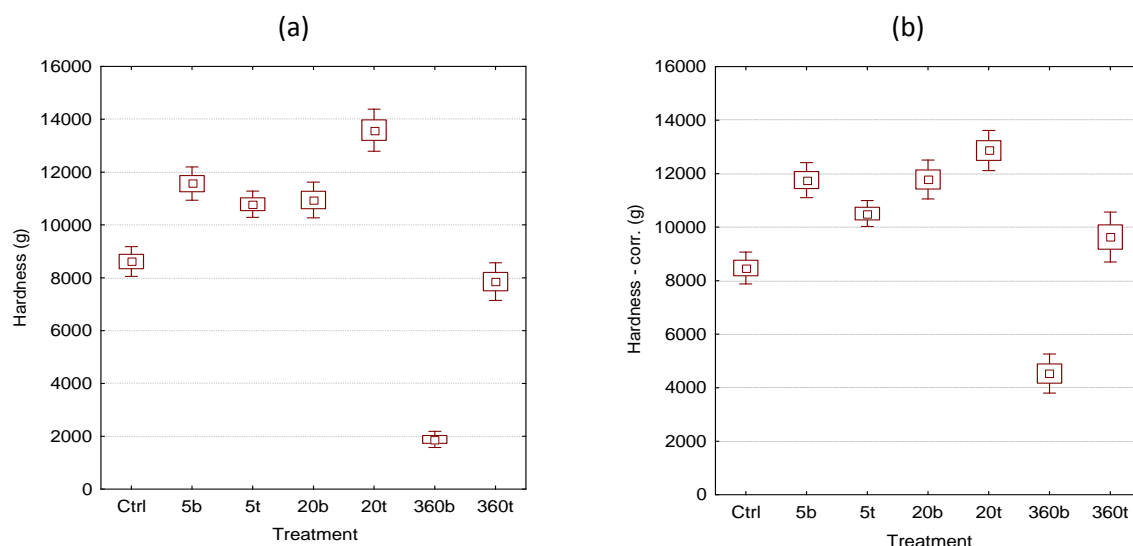


Figure 3: Effect of immersion time and type of solution on mechanical properties of marinated cooked meat cubes, assessed by texture profile analysis. *Ctrl*: non-marinated cooked meat control, *5b* and *5t*: samples respectively marinated for 5 minutes in binary (water-acetic acid) or ternary (water-acetic acid-salt) solutions before cooking. (a) *hardness* (g), (b) *hardness* corrected for variation of protein content during marination. Limits of boxes: mean \pm standard error, limits of error bars: mean \pm interval of confidence ($p = 0.95$).

3.2.3.2. Shearing.

Records of shear stress upon displacement of 90% of the height of the marinated and cooked samples primarily produce 2 variables: the maximum measured force (F_{max}) and variable representative of all the material cut off during displacement (*Work*). The results are shown at the right part of table 3. The trends observed are the same whichever of these variables is considered, so we opted to graphically represent only the result of the *Work* variable and the corrected proteins loss variable values (Fig.4).

The trends observed are similar to those with TPA: short durations result in hardening in comparison to the control. For long marination durations, we observe very high tenderization, for solutions with or without salt (*Work* of 2450 and 1900 g.mm respectively), with significant tenderization in comparison to the control (3100 g mm), including for treatment in a solution containing salt, which distinguishes this test from TPA.

As for measurements made by TPA, the treatment with the most negative effect on the shear stress measured is the 360 minute immersion treatment in water-acid solution.

If this proteins content value data is corrected (Fig. 4b), according to the same principle as for TPA (equation 3), it is found that the shear work measurement of the sample means that the 360 minute treatments can no longer be deemed to significantly tenderize the meat in comparison to the control. Furthermore, all the other treatments seem to harden the meat.

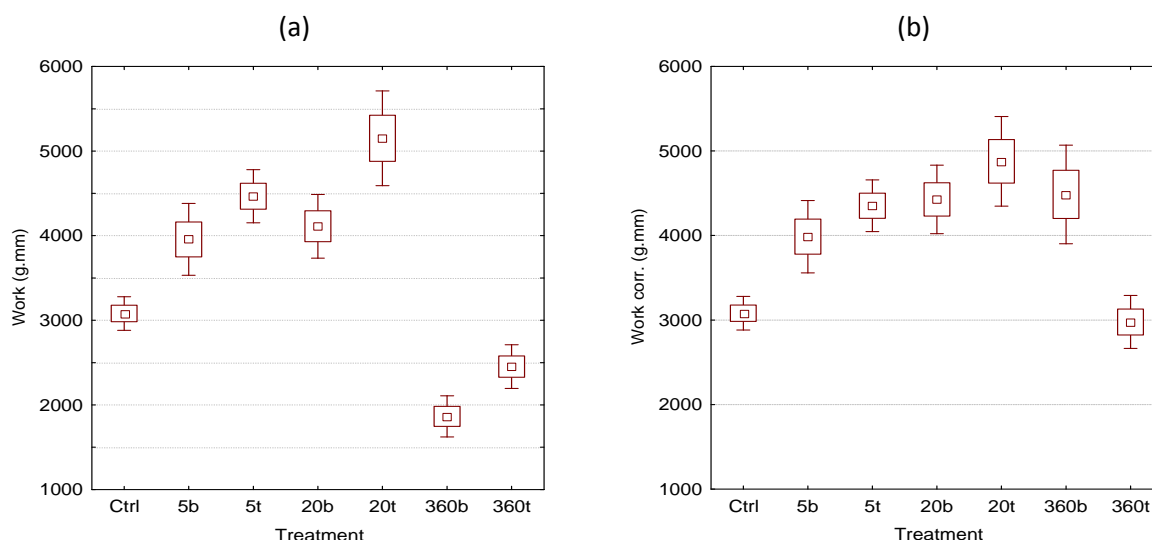


Figure 4: Effect of immersion time and type of solution on mechanical properties of marinated cooked meat cubes, assessed by work at shear stress. *Ctrl*: non-marinated cooked meat control, *5b* and *5t*: samples respectively marinated for 5 minutes in binary (water-acetic acid) or ternary (water-acetic acid-salt) solutions before cooking. (a) *work* (g.mm), (b) *work* corrected for variation of protein content during marination. Limits of boxes: mean \pm standard error, limits of error bars: mean \pm interval of confidence ($p = 0.95$).

Tenderization caused by long treatment times, and measured by shearing, seems to be due only to a decrease in fiber density per section unit tested.

Taking *Fmax* after proteins content variation corrected (calculation not shown here), the conclusion is the same, it can also be assumed that the tenderization is due to fiber density variation in the sample. This test, classified as empirical according to Szczesniak (1963), indicates the actual shear resistance of the sample by the tool used. TPA rather indicates the probable sensorial perception. Therefore we might believe that if long marination durations do not really tenderize the meat, in the case of water-acid treatment (360 min.), the sensorial perception would be that of a more tenderized product than the control and all the other treatments.

4. Discussion

4.1. Salt limits marination mass gain.

The presence of salt in the marinade, at moderate concentration, can confer on the treated meat properties different to those described in water-acid marination, for swelling and tenderness variables. The salt content employed ($< 1.5\%$), of the same level as normally found in marinated products, can considerably reduce the swelling observed upon the fall in pH compared with swelling that would have been observed in a water-acid solution. This phenomenon is not specific to turkey breast; as we observed in unpublished works on beef &

pork fillet and turkey drumstick. For higher salt contents, the pH no longer has significant influence on mass variation, which is always negative (Goli et al., 2011).

Chloride ions appear to form a screen reducing electrostatic repulsions between positive charges on the proteins (Hamm, 1986). Hamm (1961) demonstrated that the water holding capacity was lower in an acid-salt medium than the observations made in the absence of salt.

In a water-acid medium, even for short marination durations, high matter gains are observed. This behavior could be explained by the collaboration of 2 phenomena: (i) the electrostatic repulsions between proteins due to the increase of their net positive charge caused by the fall in pH, and (ii) depolymerization and solubilization of the myofibrillar proteins and connective tissue, which weaken the structure. These 2 phenomena lead to a protein hydration state due to inflow of marination solution under the effect of a fall in internal pressure (Goli et al., 2011).

In the presence of salt there are greater cooking losses (*CL*) than with marination in a water-acid solution. However, if used alone in moderate quantity, salt improves the water holding properties of the meat, raw or after cooking (Hamm et al., 1961; Medynski et al., 2000), which makes it a very commonly employed ingredient in the delicatessen industry. The salt anion has a hydrating effect by virtue of its strong affinity with the cation side groups on the proteins ($R-NH_3^+$), which reduces the electrostatic attraction forces between proteins, very strong at the initial pH of the meat close to pH_i .

Tornberg (2005) explains that in moderate cooking, joint contraction of collagen fibers of connective tissue and myofibrils causes a sort of exudate from the inter-cellular spaces. In the case of our study, this becomes all the easier as the cubes present cut surfaces perpendicular to the fibers, and water is less well held by the proteins (case of short times where the pH is close to the protein pH_i). For longer times, the fall in pH probably contributes to reducing cooking losses.

In the special case of a water-acid solution at 360 min., the cooking loss is the lowest observed in this study. It can be hypothesized that two mechanisms are working in combination. On the one hand the water holding capacity of the proteins was considerably increased by treatment, (fall in pH more than one unit below pH_i) to the point of holding the water already present plus most of the large quantity of water taken in during marination. On the other hand the weakening of the structure, combined with the significant solubilization of myofibrillar proteins (22% protein loss, see tab. 2) and the denaturation of collagen prevented retraction during cooking, which was able to occur in the other cases. The cubes subjected to this treatment have a very different appearance to the others: the meat is gelified and spongy,

and it retains this appearance even after cooking. It is easily separated into slices that slide over each other as if the holding connective structure had dissolved. This reduction in exudation with fall in pH is in agreement with the data from the literature (Aktas et al., 2003; Rao et al., 1989). Gault (1985) reports a correlation between high swelling, fall in pH and low cooking losses, in a water-acid solution. The denaturation temperature of the proteins, measured by DSC, is reduced by acidification (Horgan, Kurth, & Kuypers, 1991; Kijowski, 1993), whereas collagen is made more thermostable by cooking in the presence of salt, regardless of pH (Aktas, 2003). The explanation given by Aktas is that though pH reduction affects the hydrogen bonds and protein-protein interactions, NaCl appears to have an antagonistic effect, on the one hand reducing the repulsion forces between protein cation side groups and on the other hand favoring the creation of hydrogen bonds and hydrophobic interactions between proteins, through the increase in the ionic force. This knowledge validates the fact that products treated in a water-acid-salt solution have a high exudation when cooked. Similarly, for short times, the exudation when cooked is high due to the low water holding capacity of the myofibrillar proteins (proximity of pH to pH_i). In both cases, the collagen present which has retained its integrity contributes to the exudation through its retraction when cooked, which compresses the muscle fibers. Although the turkey breast is very low in collagen, every fiber is covered with an endomysium sheath. Given the observations made about the marination mass gains and about the cooking losses, the result is that the overall balance, *GMG*, is clearly favorable to products treated in a water-acid solution for durations longer than 5 min.

4.2 Effect of salt and time on texture

The most tender product in the study (whether in TPA or SF90), the product marinated for 360 min. in a water-acid solution, also has the best overall matter balance (+70%), the lowest proteins content (11%) and the furthest pH from pH_i (-1.2 units). These results are along the same lines as the works by Gault (1985), who reported that in a water-acid solution, there is a correlation between tenderness and (i) significant reduction in pH (especially below 4.6), (ii) high swelling (especially if greater than 50%) (iii) low cooking losses. Burke and Monahan (2003) demonstrated that solubilization of proteins upon acid treatment, coupled with hydration, explains the tenderization of the meat observed. Conversely, the least tender product was the sample treated for 20 min. in a water-acid-salt solution. However it is little different, in terms of characteristics, from the other samples treated for short times. The hypothesis that we can put forward is that the reduction in pH it exhibits is sufficiently high to

compensate for the effects of the salt in term of reinforcing the hydrogen bonds and hydrophobic interactions, and of reducing the electrostatic repulsions. In this case the collagen appears to be reinforced against the solubilizing effects of heat (Aktas, 2003). Furthermore, for these short durations, the initial pH is close to the pH_i around the start of acidification. The electrostatic attraction forces are then at their maximum, resulting both in a fall in water holding capacity and in an increase in cooking losses, correlated with hardening (Gault, 1985). For longer durations, the salt content and acidity of the meat will increase, to reach equilibrium. This corresponds in our experimental system to a product at pH 3.9 and 0.23 M NaCl. The dehydrating effect of the salt observed in an acidic medium could have been counterbalanced in this case by: (i) solubilization of proteins (loss of 11%), (ii) increase in the number of repulsive positive charges on the proteins not masked by chloride ions, (iii) exposure of the hydrophobic zones of the proteins due to the increase in denaturation through unfolding. The fact that actual tenderization is observed in a water-acid medium by compression, and not by shearing, could indicate that the connective tissues are particularly affected by acidification, unlike myofibers. According to Bouton and Harris (1972) indeed, tests based on shearing are more indicative of the contribution of the myofibers to the mechanical properties of the meat, whereas tests based on a high compression rate are indicative of the contribution of the connective tissues. In the presence of salt, the connective tissues appear to be reinforced against thermal denaturation. However, this interpretation must be put forward with care, since the test that we have employed is more to do with the clean cut of the fibers than with applying any genuine shear stress on the tissues.

These results open up the way to further studies, so as to be able to provide values fit for industrial use. In the literature, the evolution of the properties of meat marinated in an acid-salt medium has never been taken into account in its dynamic, but after long immersion periods (24 to 72 hours). Kinetic studies analyzing the evolution of the characteristics and the matrix structure in solutions in various salt-acid proportions should enable better determination of salt-acid interactions in the development of functional properties in marination. However, it can now be assumed that a minimum treatment time must be observed to obtain sufficient denaturation of the proteins, favorable improvement of juiciness and tenderness. The addition of salt must be just sufficient in quantity to prevent excessive loss of texture without compromising the economic benefit by penalizing the overall matter balances.

4. Conclusion

This study was able to reveal the effect of salt on the properties of turkey meat subjected to acidic marination. For short treatment times, hardening is observed regardless of the nature of the immersion solution, reinforced by the presence of salt, due to the pH and correlated with greater cooking losses than for a non-marinated control. For longer durations, the denaturation of proteins under the effect of the increase in ionic force and the fall in pH enable a reduction in the cooking losses and relative tenderization of the cooked meat. This effect is more marked with treatment in a water-acid solution, and seems to affect connective tissues more particularly. The explanation could lie in the antagonistic roles of salt and acid in their effects on water-protein and protein-protein interactions, and in the high solubilization of proteins in the absence of salt. Subsequent kinetic studies analyzing the evolution of the characteristics and structure of the matrix in solutions with various salt-acid proportions should enable better determination of the salt-acid interactions in the development of the meat functional properties in marination.

- Aktas, N. (2003). The effects of pH, NaCl and CaCl₂ on thermal denaturation characteristics of intramuscular connective tissue. *Thermochimica Acta*, 407, 105-112.
- Aktas, N., Aksu, M., & Kaya, M. (2003). The effect of organic acid marination on tenderness cooking loss and bound water content of beef. *Journal of Muscle Foods*, 14(3), 181-194.
- Bourne, M. C. (1978). Texture Profile Analysis. *Food Technology*, 7(32), 62-66.
- Bouton, P. E., & Harris, P. V. (1972). A comparison of objective methods used to assess tenderness *Journal of Food Science*, 37, 218-221.
- Burke, R. M., & Monahan, F. J. (2003). The tenderisation of shin beef using a citrus juice marinade. *Meat Science*, 63(2), 161-168.
- Chang, H.-J., Wang, Q., Zhou, G.-H., Xu, X.-L., & Li, C.-B. (2010). Influence of weak organic acids and sodium chloride marination on characteristics of connective tissue collagen and textural properties of beef semitendinosus muscle. *Journal of Texture Studies*, 41(3), 279-301.
- Dransfield, E. (1977). Intramuscular composition and texture of beef muscles. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 28(9), 833-842.
- Ergezer, H., & Gokze, R. (2011). Comparison of marinating with two different types of marinade on some quality and sensory characteristics of Turkey breast meat. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10(1), 60-67.
- Gault, N. F. S. (1985). The relationship between water-holding capacity and cooked meat tenderness in some beef muscles as influenced by acidic conditions below the ultimate pH. *Meat Science*, 15(1), 15-30.
- Goli, T., Bohuon, P., Ricci, J., & Collignan, A. (2012). Evolution of pH during immersion of meat protein matrices in acidic marinades. *Meat Science*, 90(3), 618-623.
- Goli, T., Bohuon, P., Ricci, J., Trystram, G., & Collignan, A. (2011). Mass transfer dynamics during the acidic marination of turkey meat. *Journal of Food Engineering*, 104(1), 161-168.
- Hamm, R. (1986). Functional properties of the myofibrillar system and their measurements. In P. J. Bechtel (Ed.), *Muscle as food* (pp. 135-199). Orlando (USA): Academic Press.
- Hamm, R., Chichester, C. O., & Mrak, E. M. (1961). Biochemistry Of Meat Hydration. In C. O. Chichester & E. M. Mrak (Eds.), *Advances in Food Research* (Vol. 10, pp. 355-463). Orlando (USA): Academic Press.
- Hamm, R., & Deatherage, F. E. (1960). Changes in hydration, solubility and charges of muscle proteins during heating of meat. *Journal of Food Science*, 25(5), 587-610.
- Horgan, D. J., Kurth, L. B., & Kuypers, R. (1991). PH Effect on Thermal Transition Temperature of Collagen. *Journal of Food Science*, 56(5), 1203-1204.
- Hwang, I. H., Lin, C. W., & Chou, R. G. R. (2000). Effect of lactic or acetic acid on degradation of myofibrillar proteins in post-mortem goose (*Anser anser*) breast muscle. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(2), 231-236.
- Kijowski, J. (1993). Thermal transition temperature of connective tissues from marinated spent hen drumsticks. *International Journal of Food Science and Technology*, 28(6), 587-594.
- Kijowski, J., & Mast, M. G. (1993). Tenderization of spent fowl drumsticks by marination in weak organic solutions. *International Journal of Food Science & Technology*, 28, 337-342.
- Knight, P., & Parsons, N. (1988). Action of NaCl and polyphosphates in meat processing: Responses of myofibrils to concentrated salt solutions. *Meat Science*, 24(4), 275-300.
- Kohli, N., & Gros, J. B. (2008). Etude de la migration des ions lors du marinage de la viande de boeuf dans des solutions d'acide acétique et/ou de sel. *12èmes Journées des Sciences du Muscle et des Technologies de la Viande*, Tours (France), 85-86.

- Koohmaraie, M., Kent, M. P., Shackelford, S. D., Veiseth, E., & Wheeler, T. L. (2002). Meat tenderness and muscle growth: is there any relationship? *Meat Science*, 62(3), 345-352.
- Kuypers, R., & Kurth, L. B. (1995). Collagen's contribution to meat texture. *Proceedings of Meat' 95, The Australian Meat Industry Research Conference*, Gold Coast (Australia), 11B, 11-18.
- Lepetit, J. (2008). Collagen contribution to meat toughness: Theoretical aspects. *Meat Science*, 80(4), 960-967.
- Lepetit, J., & Culioli, J. (1994). Mechanical properties of meat. *Meat Science*, 36(1-2), 203-237.
- Lepetit, J., Grajales, A., & Favier, R. (2000). Modelling the effect of sarcomere length on collagen thermal shortening in cooked meat: consequence on meat toughness. *Meat Science*, 54(3), 239-250.
- Medynski, A., Pospiech, E., & Kniat, R. (2000). Effect of various concentrations of lactic acid and sodium chloride on selected physico-chemical meat traits. *Meat-Science*, 55(3), 285-290.
- Meullenet, J. F., Lyon, B. G., Carpenter, J. A., & Lyon, C. E. (1998). Relationship between sensory and instrumental texture profile attributes. *Journal of Sensory Studies*, 13(1), 77-93.
- Niinivaara, F. P., & Pohja, M. S. (1954). Zur theorie der wasser-bindung des fleisches. *Fleischwirtschaft*, (6), 192-196.
- Offer, G., & Knight, P. (1988). The structural basis of water-holding in meat part 1: General principles and water uptake in meat processing. In R. Lawrie (Ed.), *Developments in meat science* (Vol. Volume 4, pp. 63-171.). London: Elsevier Applied Science.
- Offer, G., Knight, P., Jeacocke, R., Almond, R., Cousins, T., Elsey, J., Parsons, N., Sharp, A., Starr, R., & Purslov, P. (1989). The structural basis of water holding in meat. Appearance and Toughness of Meat and Meat Products. *Food Microstructure*, 4(8), 151-170.
- Puolanne, E., & Kivikari, R. (2000). Determination of the buffering capacity of postrigor meat. *Meat Science*, 56(1), 7-13.
- Purchas, R. W. (2004). Tenderness measurement. In W. K. Jensen (Ed.), *Encyclopedia of Meat Sciences* (pp. 1370-1377). Oxford (UK): Elsevier.
- Purslow, P. P. (2005). Intramuscular connective tissue and its role in meat quality. *Meat Science*, 70(3), 435-447.
- Rao, M. V., & Gault, N. F. S. (1990). Acetic acid marinading - the rheological characteristics of some raw and cooked beef muscles which contribute to changes in meat tenderness. *Journal of Texture Studies*, 21(4), 455-477.
- Rao, M. V., Gault, N. F. S., & Kennedy, S. (1989). Variations in water-holding capacity due to changes in the fibre diameter, sarcomere length and connective tissue morphology of some beef muscles under acidic conditions below the ultimate pH. *Meat Science*, 26(1), 19-37.
- Risvik, E. (1994). Sensory properties and preferences. *Meat Science*, 36(1-2), 67-77.
- Ruiz de Huidobro, F., Miguel, E., Blázquez, B., & Onega, E. (2005). A comparison between two methods (Warner-Bratzler and texture profile analysis) for testing either raw meat or cooked meat. *Meat Science*, 69(3), 527-536.
- Saunders, A. B. (1994). The effect of acidification on myofibrillar proteins. *Meat Science*, 37(2), 271-280.
- Szczesniak, A. S. (1963). Objective measurements of food texture. *Journal of Food Science*, 28(4), 410-420.

- Szczesniak, A. S., Brandt, M. A., & Friedman, H. H. (1963). Development of Standard Rating Scales for Mechanical Parameters of Texture and Correlation Between the Objective and the Sensory Methods of Texture Evaluation. *Journal of Food Science*, 28(4), 397-403.
- Tornberg, E. (2005). Effects of heat on meat proteins - Implications on structure and quality of meat products. *Meat Science*, 70(3), 493-508.
- Vestergaard, C., Andersen, B. L., & Adler-Nissen, J. (2007). Sodium diffusion in cured pork determined by ²²Na radiology. *Meat Science*, 76(2), 258-265.
- Wenham, L. M., & Locker, R. H. (1976). The effect of marinading on beef. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 27(12), 1079-1084.
- Whipple, G., & Koohmaraie, M. (1993). Calcium chloride marination effects on beef steak tenderness and calpain proteolytic activity. *Meat Science*, 33(2), 265-275.
- Wood, J. D., Nute, G. R., Fursey, G. A. J., & Cuthbertson, A. (1995). The effect of cooking conditions on the eating quality of pork. *Meat Science*, 40(2), 127-135.
- Xiong, Y. L. (2005). Role of myofibrillar proteins in water-binding in brine-enhanced meats. *Food Research International*, 38(3), 281-287.
- Yusop, S. M., O'Sullivan, M. G., Kerry, J. F., & Kerry, J. P. (2010). Effect of marinating time and low pH on marinade performance and sensory acceptability of poultry meat. *Meat Science*, 85(4), 657-663.

PARTIE 4 : DISCUSSION GÉNÉRALE

4.1. Un seuil de teneur en sel pour le régime d'hydratation des protéines de la viande.

Une partie de ce travail de thèse trouve son originalité dans le fait que les effets du sel et de l'acide ont été étudiés dans des solutions d'immersion comportant ces deux ingrédients combinés. Si les effets séparés du sel et de l'acide ont fait l'objet de nombreuses études, il n'existe pas à notre connaissance de travaux sur la dynamique des transferts et des modifications de propriétés de la viande en cours de marinage acide.

Parmi les résultats exposés dans l'article 1, un des traits marquants est la mise en évidence d'un seuil de teneur en NaCl de la solution au-delà duquel, quelle que soit l'acidité de la solution d'immersion, la viande crue se rétracte. Il nous a semblé important de revenir sur ces résultats, pour en préciser les limites et compléter les interprétations proposées en les étayant de résultats ou de représentations supplémentaires.

La figure 13b reprend une des figures de l'article 1. Cette figure montre l'effet du sel sur le gonflement de la viande en fonction du temps, pour une teneur en acide de la solution d'immersion fixée arbitrairement à une molalité de 1,1. Plusieurs informations ont été déduites de cette représentation parmi lesquelles, en résumé :

- Au-delà d'une concentration seuil en NaCl de la solution d'immersion de 0,2 à 0,3M on passe d'un régime de forte hydratation à une rétraction des cubes de viande.
- En-deçà de ce seuil, pour des solutions très diluées en sel, on observe une hydratation importante de la viande, qui peut représenter un doublement de la masse initiale pour des temps de traitement longs.

Si la seconde information est bien documentée dans la littérature, les conditions dans lesquelles on provoque une expansion ou un retrait de la matrice en présence de sel méritent d'être discutées au regard de nos résultats. Le tableau d'analyse des coefficients du modèle issu du plan en réseau de Doehlert (cf. article 1) nous indique un faible effet de la teneur en acide de la solution sur les gains en eau ou gain de masse de la viande. La figure 13a montre en effet que mis à part pour les très faibles teneurs en sel, où l'acide semble favoriser le gain en eau (*WG*), l'effet de l'acide sur le gain en eau semble négligeable.

La figure 13c est une autre représentation des mêmes données que celles de la figure 13a. Elle explicite mieux la zone de concentration en sel dans la solution d'environ 0,3M comme étant

la limite au-delà de laquelle, indépendamment de la teneur en acide, on n'observe pas de gonflement. Elle met en évidence une anomalie du plan, qui est le masquage du phénomène de *salting out* dans notre domaine expérimental. Ce phénomène est connu en solution eau-sel pour des teneurs en sel voisines de 1 M. En fait, le plan en réseau de Doehlert représente assez mal les phénomènes pour les très faibles concentrations en sel et en acide aux bornes du domaine, bien qu'il donne de très bonnes informations sur les grandes tendances plus au centre. Etant donné que le pH de la viande descend très vite dès les concentrations faibles en acide acétique (il atteint un pH de 4,5 pour une solution 0,03 M à 200 minutes) nous avons souhaité expliciter les phénomènes dans un domaine de teneurs en sel et acide plus faibles dans la solution.

La figure 13d est issue d'un plan complet réalisé à 300 minutes pour des concentrations $C_s = [0 ; 0,25 \text{ M}]$ et $C_{HA} = [0 ; 0,5 \text{ M}]$. Ces travaux confirment qu'en-deçà de 0,3 M de sel en solution, on observe systématiquement des gains de masse, et qu'il n'y a pas de gain de masse en solution eau-sel-acide très diluée. Il montre également la forte interaction entre l'effet du sel et celui de l'acide dans ce domaine de concentrations faibles. D'autres expérimentations non rapportées dans les articles de cette thèse nous ont permis de vérifier que le gain de masse en solution d'immersion eau-sel (1 M) sur de la poitrine de dinde est très significatif ($MG = 0,27 \pm 0,01 \text{ kg kg}^{-1}$). Pour Offer *et al.* (1989), le gonflement en solution eau-sel ne commence qu'au-delà de 0,5 M de sel.

La littérature (se reporter au paragraphe 1.2.4.3 pour plus de détails) indique que les effets du sel sur la CRE de la viande dépendent essentiellement du pH. Hamm *et al.* (1961) attribuent à l'ion Cl^- une affinité particulière pour les protéines de la viande et donc un rôle prépondérant dans le comportement de la viande au salage.

Lorsque ce pH est supérieur au pH_i des protéines myofibrillaires, qui sont les principales protéines du muscle, l'effet du sel est **hydratant**. La figure 12 présentée au paragraphe 1.2.4.3 montre que la CRE est supérieure en présence de sel à ces pH à celle que l'on observe lorsque le pH seul est modifié. **En absence de sel**, l'explication proposée par Hamm (1961) est que la matrice s'expande sous l'effet de l'excès de charges négatives, portées principalement par les groupements carboxyliques des chaînes latérales des aminoacides acides (acide aspartique et glutamique). Ces charges dominent sur celles des autres aminoacides ionisables (« basiques »). L'excès de charges négatives se traduit par une augmentation de la capacité des protéines à retenir l'eau par capillarité du fait de l'expansion, et de l'exposition accrue de groupements polaires susceptibles de se lier à l'eau.

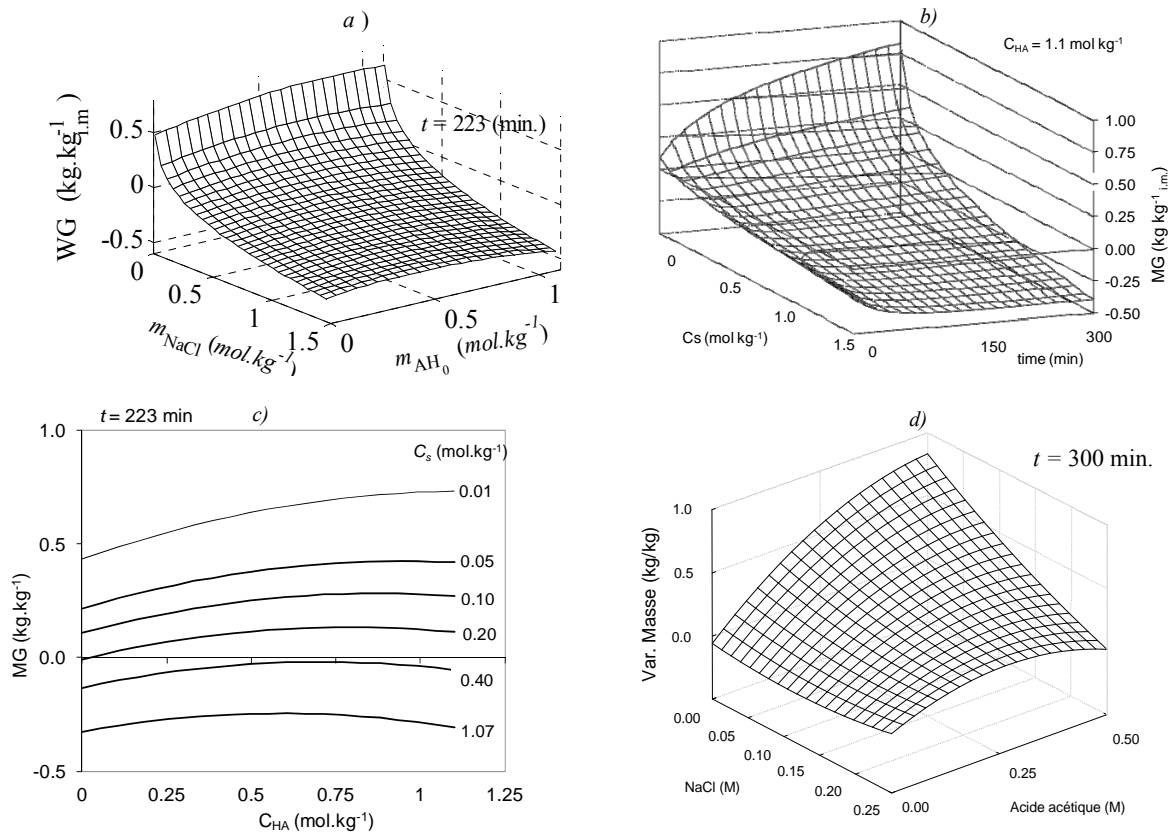


Figure 13 :

- a) gain en eau (WG) de cubes de dindes de 1cm^3 après 223 min. d'immersion en fonction de la teneur en sel ($m_{\text{NaCl}} = C_s$) et en acide acétique ($m_{\text{AH}_0} = C_{\text{HA}}$) de la solution d'immersion à 20°C.
- b) gain de masse (MG) de cubes de dindes de 1cm^3 après 223 min. d'immersion en fonction de la teneur en sel (C_s) et en acide acétique (C_{HA}) de la solution d'immersion à 20°C.
- c) gain de masse de cubes de dinde de 1cm^3 après 223 min d'immersion en fonction de la teneur en sel (C_s) et en acide acétique (C_{HA}) de la solution d'immersion à 20°C
- d) gain de masse de cubes de dinde de 1cm^3 après 300 min d'immersion en fonction de la teneur en sel et en acide acétique de la solution d'immersion à 20°C.

En présence de sel, l'effet hydratant est renforcé par l'écran que forment les Cl^- présents qui masquent une partie des charges cationiques des protéines (celles des acides aminés « basiques », arginine, lysine, tyrosine et cystéine). Ceci a pour effet d'augmenter le déséquilibre déjà présent à ce pH en faveur des charges négatives.

Lorsque le pH est inférieur au pH_i des protéines myofibrillaires (environ 5,2), la charge nette des protéines est augmentée par la protonation progressive des groupements R-COO^- (ceux des acides aspartique et glutamique). L'expansion et l'hydratation des protéines sont alors liées aux répulsions entre charges positives en excès. **En présence de sel** l'excès de charges positives est pour partie contrecarré par la présence des ions Cl^- , dont l'effet est alors déshydratant. On observe alors en lien avec ce mécanisme un déplacement du point de moindre CRE (ou pH_i) vers le bas. En effet, selon Niinivaara & Pohja (1954), à la valeur de pH correspondant au pH_i conventionnel, on observe alors un excès de charges négative. La baisse du pH à partir de ce point sera donc déshydratante.

Plusieurs outils peuvent être recoupés pour réaliser le comptage et l'identification des groupements « titrables » des protéines, donnée fondamentale pour mettre en relation le pH et les propriétés de la matrice. L'établissement de la courbe de titration au moyen d'un acide fort et d'une base forte fournit des informations sur la capacité de la matrice à capter des protons ou des ions hydroxyles. L'inertie de la matrice au changement de pH est appelée pouvoir tampon (cf. article 2). Si le milieu réactionnel est un homogénat de viande, les protéines myofibrillaires ne seront pas les seules à réagir à l'ajout de base ou d'acide. Kivikari (1996) a inventorié les constituants de la viande impliqués dans cette réactivité : phosphates et dipeptides, et résidus latéraux lysine des protéines réagissent, à pH voisin de la neutralité, tandis qu'à pH acide, le lactate et les résidus latéraux protéiques des aminoacides dits « acides » sont impliqués.

Hamm (1994) a compté le nombre de groupements réactifs des protéines myofibrillaires au moyen d'une méthode basée sur la fixation de colorants (méthode de Fraenkel-Conrat et Cooper, 1944), dans la gamme de pH 2 à 13. La figure 14 localise ces groupes selon leur pH de réactivité.

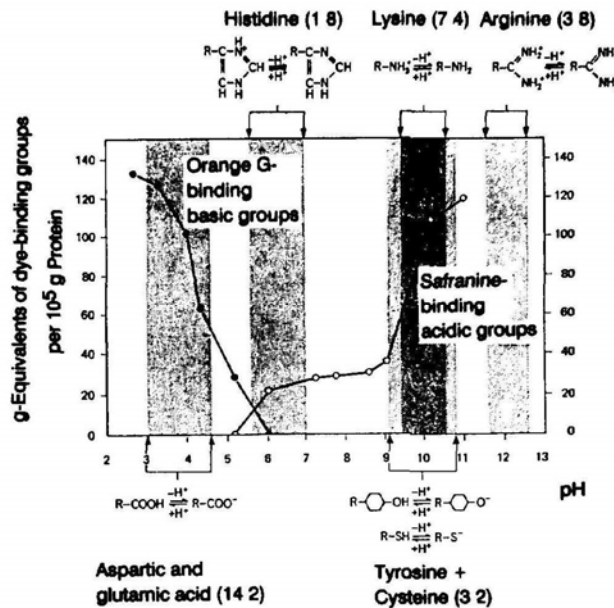


Figure 14 : Effet du pH sur le nombre de groupements fixateurs de colorant dans les myofibrilles. Les zones grisées matérialisent les zones de pH où se produit la dissociation des fonctions acides ou basiques des chaînes latérales des aminoacides réactifs. Entre parenthèses figurent le nombre d'équivalents aminoacides pour 10⁵ g de myosine. (Hamm 94).

Pour la zone de pH acides, le colorant Orange G se fixe entre pH 3 et 4,5 sur 142 résidus d'acides aspartique (ASP) et glutamique (GLU) pour 10⁵ g de protéines. Ces groupements titrables, chargés négativement au pH initial de la titration, sont dit « basiques ».

Dans la zone de pH alcalin, le nombre de résidus identifiés par coloration à la safranine est de l'ordre de 124. Ces groupements sont les groupements « acides » (c'est-à-dire protonés) au pH initial titré, soit :

- L'histidine (pH 5,5 à 7)
- La tyrosine, la cystéine et la lysine, (pH 9 à 11)

L'arginine représente environ 40 résidus, réactifs dans la zone de pH > 11.

La titration acide d'un homogénat de viande jusqu'à pH 3, telle de présentée dans l'article 2, rend compte du pouvoir tampon lié essentiellement aux acides aminés basiques au pH initial de titration, (soit ASP et GLU) et à la présence d'acide lactique.

Nous avons mesuré, sur un ensemble de produits carnés, la quantité de protons à ajouter pour abaisser le pH d'un homogénat de 4,5 à 3,0. Pour la poitrine de dinde, des valeurs de l'ordre de 350 meq H⁺ kg⁻¹ ont été observées (cf. tableau 5). En exprimant cette valeur selon les unités utilisées par Hamm, on obtient, sur la base d'une matière sèche de l'ordre de 25% (base humide), un nombre de groupements « basiques » de l'ordre de 140 pour 100 kg de matière

sèche. Cette valeur est très proche de celle rapportée par Hamm (142) sur myosine pure (cf. fig. 14).

Tableau 5 : Propriétés de fixation des protons de différents muscles dans le domaine de pH 3 à 4,5.

| Muscles | H^+_{add} ^a (meq H^+ kg ⁻¹) | $H^+_{add\ corr.}$ ^b (meq H^+ kg ⁻¹) | \bar{Z}_H ^c (nbre grouppts.) |
|-------------------------|---|--|--|
| Poitrine A (dinde) | 327 ± 6 | 235 | 94 |
| Poitrine B (dinde) | 384 ± 4 | 292 | 117 |
| Poitrine C (dinde) | 337 ± 9 | 245 | 98 |
| Haut de cuisse (poule) | 219 ± 10 | 164 | 65 |
| Pilon (poule) | 210 ± 13 | 153 | 61 |
| Poitrine (poule) | 321 ± 18 | 231 | 92 |
| Aloyau (bœuf) | 301 ± 8 | 214 | 86 |
| Filet poisson (limande) | 131 ± 16 | 114 | 45 |

a. Quantité d'ions H^+ à ajouter à 1 kg d'homogénat de muscle pour déplacer le pH de 4,5 à 3.

b. H^+_{add} ramenée à une teneur en lactate nulle.

c. Nombre de groupements fixateurs de protons en eq.g pour 10⁵g de protéines.

Ces valeurs sont également comparables avec celles obtenues par comptage par Bendall & Wiesmer-Pedersen (1962), Connell & Howgate (1959; 1964), qui tirent ces valeurs de courbes de titration ou d'hydrolyse des protéines et dosage des acides aminés libérés.

Nous devons toutefois corriger nos données de la teneur en lactate, qui n'est pas comptabilisée lorsque la titration est réalisée sur protéines purifiées. Le nombre de groupements se trouve ainsi ramené à 100 environ. La différence avec les données de la littérature est sans doute liée au fait que, même en déduisant la contribution des lactates, notre homogénat renferme un mélange de protéines, dont la composition en ASP et GLU est inférieure à celle de la myosine. Par ailleurs, notre protocole de titration ne nous permet sans doute pas d'accéder à tous les groupements réactifs des protéines.

Lorsque la viande est acidifiée par immersion, les lactates, ainsi qu'une partie des protéines (sarcoplasmiques et une partie des myofibrillaires) sont solubilisés, et le pouvoir de fixation de protons par unité de masse de viande marinée est donc bien inférieur à celui de la viande fraîche.

Au pH_i des protéines myofibrillaires, les charges positives des chaînes myofibrillaires, portées par l'arginine et la lysine, essentiellement, (dont le groupement réactif est sous forme $R-NH_3^+$) sont équilibrées avec les charges négatives des acides aminés GLU et ASP. Les

charges positives représentent donc environ 140 équivalents par 10^5 kg de protéines (Ou $1,4 \text{ eq kg}^{-1}$ de protéines).

Masquer l'ensemble de ces charges correspond à une quantité de chlorure de l'ordre de $0,3 \text{ mol kg}^{-1}$ de viande. Cette hypothèse pourrait être avancée pour expliquer que cette teneur en NaCl constitue un seuil limite au gonflement en milieu acide. Tant qu'il n'est pas atteint, un excès de charges positives persiste, qui se traduit par la possibilité d'expansion de la matrice par l'exercice de forces répulsives.

La neutralisation de l'ensemble des charges négatives qui existent au pH_i est facilement réalisée par acidification, car il a été montré que la plupart des protons présents dans le milieu sont très fortement fixés par la matrice et n'interviennent pas dans l'expression du pH (Goli *et al.*, 2007).

Une autre hypothèse pour justifier l'existence d'un seuil de teneur en sel pour l'hydratation des protéines en milieu acide est avancée dans l'article 1, basée sur les différences de pressions osmotiques entre les compartiments viande/solution d'immersion. Elle s'appuie sur le fait que l'osmolarité des tissus animaux est de l'ordre de $0,5$ à $0,6 \text{ osm kg}^{-1}$, ce qui correspond à la pression osmotique exercée par une solution de NaCl $0,3 \text{ M}$. Or, la déformation des cubes par différences de pressions osmotiques nécessite la présence d'une membrane semi-perméable entre le milieu intracellulaire et la solution d'immersion. Cette hypothèse est peu probable, car sur des cubes de 1 cm^3 , les surfaces de coupe sont importantes, et les membranes sarcoplasmiques sont endommagées par la maturation et les manipulations.

Ce seuil de $0,3 \text{ M}$ est-il universel ?

Nous avons comparé le comportement en termes de gain de masse de plusieurs types de tissus animaux lors d'un marinage de 6 heures en solution eau-sel ($0,3 \text{ M}$) –acide acétique ($0,25 \text{ M}$). Les résultats sont représentés à la figure 15. On constate que les viandes ont subi une expansion faible à 360 minutes, inférieure à $0,05 \text{ kg kg}^{-1}$. En revanche, les animaux aquatiques ont montré un retrait moyen à fort, avec respectivement $0,1$ et $0,5 \text{ kg kg}^{-1}$ pour la seiche et le loup de mer. **Ces résultats ne sont pas en faveur d'une explication osmotique puisque l'osmolarité du poisson est comparable à celle de la viande.**

Il a été mesuré sur la limande (article 2) un pouvoir tampon moyen très faible en comparaison de celui des viandes (environ 4 fois plus faible que celui de la poitrine de dinde), on constate également que le nombre de sites accepteurs de protons est bien plus faible sur cette matrice (tableau 5). Ainsi, le nombre de sites chargés positivement est vraisemblablement plus faible

dans le muscle de limande, et ces sites sont donc masqués à une teneur en NaCl plus réduite pour le poisson que pour la viande.

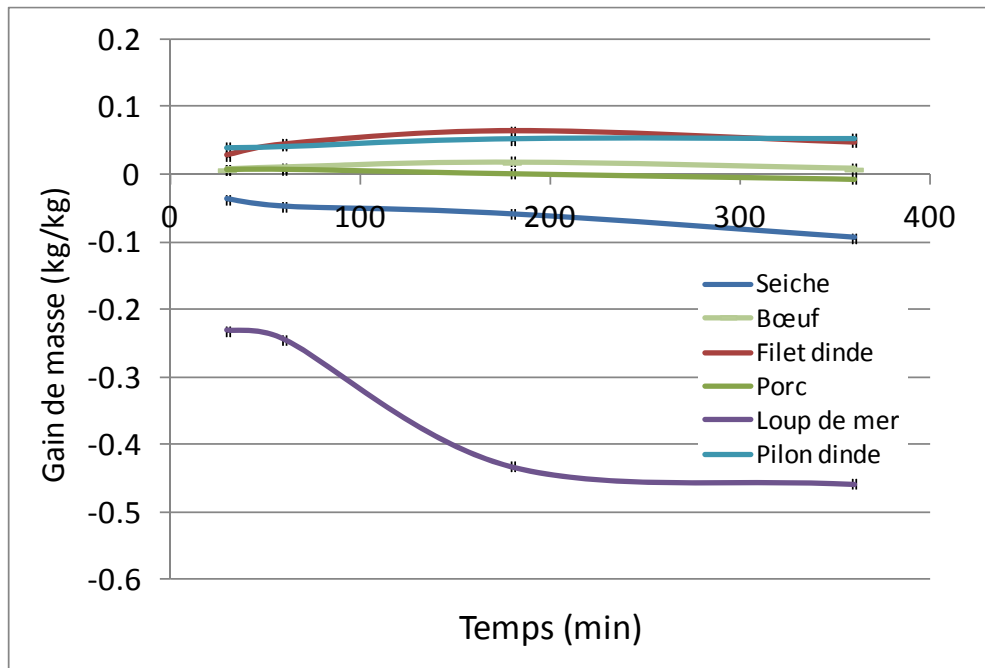


Figure 15 : Cinétiques de gain de masse de cubes d'1 cm³ de muscles de produits animaux au cours de l'immersion en solution eau – sel (0,3 M) – acide acétique (0,25 M).

Ces résultats mériteraient d'être confirmés sur plusieurs matrices par la détermination du nombre de sites chargés négativement au pH initial et par la détermination du seuil de NaCl bloquant le gonflement.

4.2. Le rôle du pH dans les transferts d'eau en cours de marinage en solution eau-sel-acide.

Dans l'article 1, le pH de la viande, en tant que variable réponse, n'a pas été discuté alors que son rôle est primordial dans la détermination des propriétés des protéines de la matrice. La figure 13a ne met pas en évidence de relation entre la teneur en acide de la solution d'immersion et l'hydratation de la viande.

Exploitions plutôt les données cinétiques de gains en eau réalisées par immersion de cubes de dinde en solution eau-sel-acide acétique dans le domaine de concentrations mises en œuvre dans l'article 1. Un traitement des corrélations entre le gain en eau et le pH atteint dans la viande est représenté dans les figures 16 et 17. Pour alléger la représentation, la figure 16 ne regroupe que les essais faits en solution de $C_{HA} = 0,03$ M, alors que la figure 17 regroupe les

solutions à 0,24 et 1,03 M en acide. La figure 16 ne met pas en évidence de corrélation entre le pH et le gain en eau, légèrement positif en général (GE de 0 à 0,1 kg kg⁻¹). Cette situation peut s'expliquer par le fait que le pH de l'ensemble de ces points réalisés à faible acidité est proche du pH_i (5,2). L'hydratation est alors au plus faible.

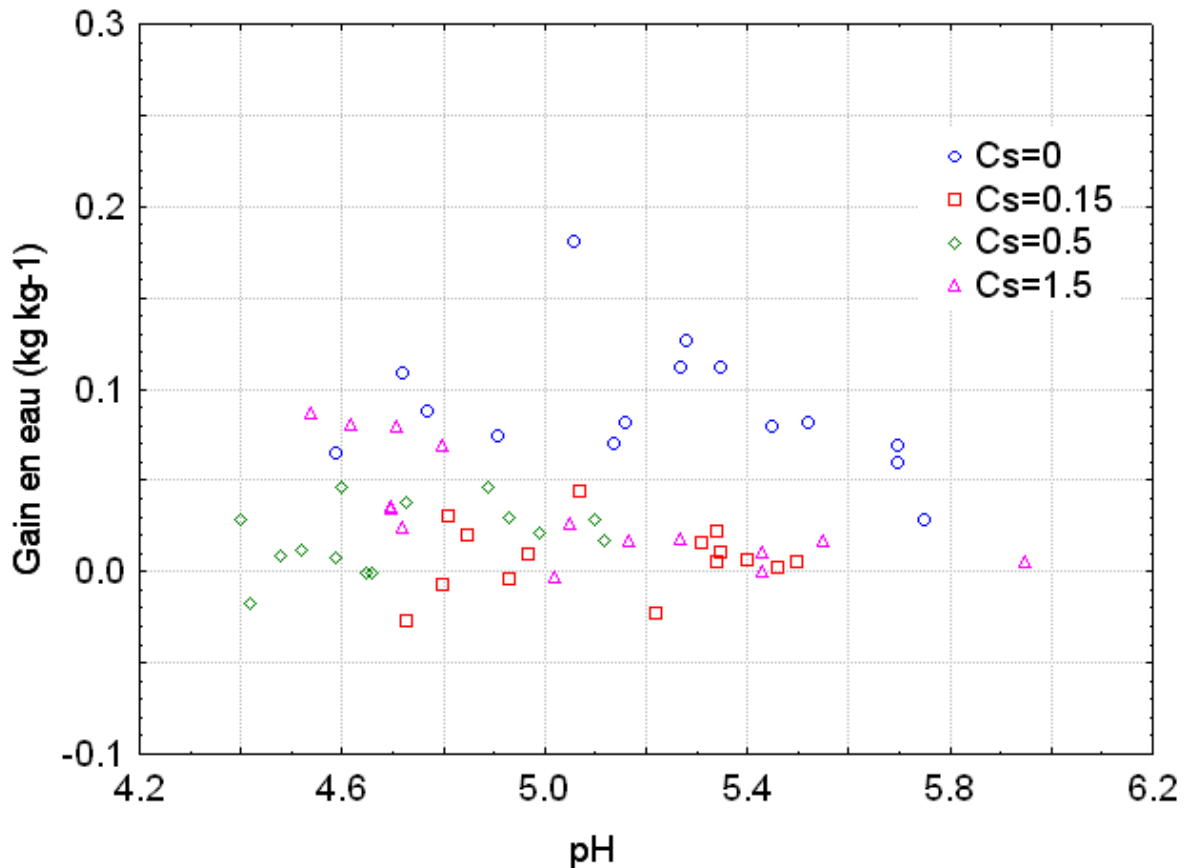


Figure 16 : Gain en eau de cubes de poitrine de dinde d'1 cm³ en fonction du pH atteint au cours de l'immersion en solution eau – sel ($C_s = [0 ; 1,5 \text{ M}]$) – acide acétique (0,03 M). Les points sont issus de durées d'immersion de 15, 30, 60, 180 et 360 minutes.

La figure 17 présente le reste des points, c'est-à-dire les traitements en solutions de $C_{HA} = 0,24$ ou 1,03 M.

Dans ces cas-là :

- les corrélations linéaires sont nettes entre les variables pH et gain en eau de la viande, au sein d'un même couple C_{HA} - C_s .
- Elles sont négatives pour les $C_s < 0,5 \text{ M}$.
- Pour les $C_s \geq 0,5 \text{ M}$, le gain en eau n'est pas lié au pH, ou la corrélation est faiblement positive.

- Dans le cas où l'abaissement de pH favorise le gain en eau ($C_s < 0,5$ M) pour une même teneur en sel en solution, 0 ou 0,15 M ; le gain en eau ne semble pas directement lié au pH mais plutôt à un effet du temps d'immersion : une même durée conduit à des gains en eau proches. (n.b. : pour une même série, la durée évolue inversement au pH).

Cet effet dynamique est à rapprocher de phénomènes commentés dans l'article 3 à propos du durcissement de la viande pour de faibles temps suivi d'un attendrissement pour des temps plus importants. Au fur et à mesure que le marinage se déroule, des mécanismes se produisent simultanément selon des dynamiques propres et en synergie ou antagonisme : actions enzymatiques, renforcement ou affaiblissement du collagène et de la structure des myofibres, solubilisation et dénaturation des protéines, solubilisation du lactate et de composés non protéiques.

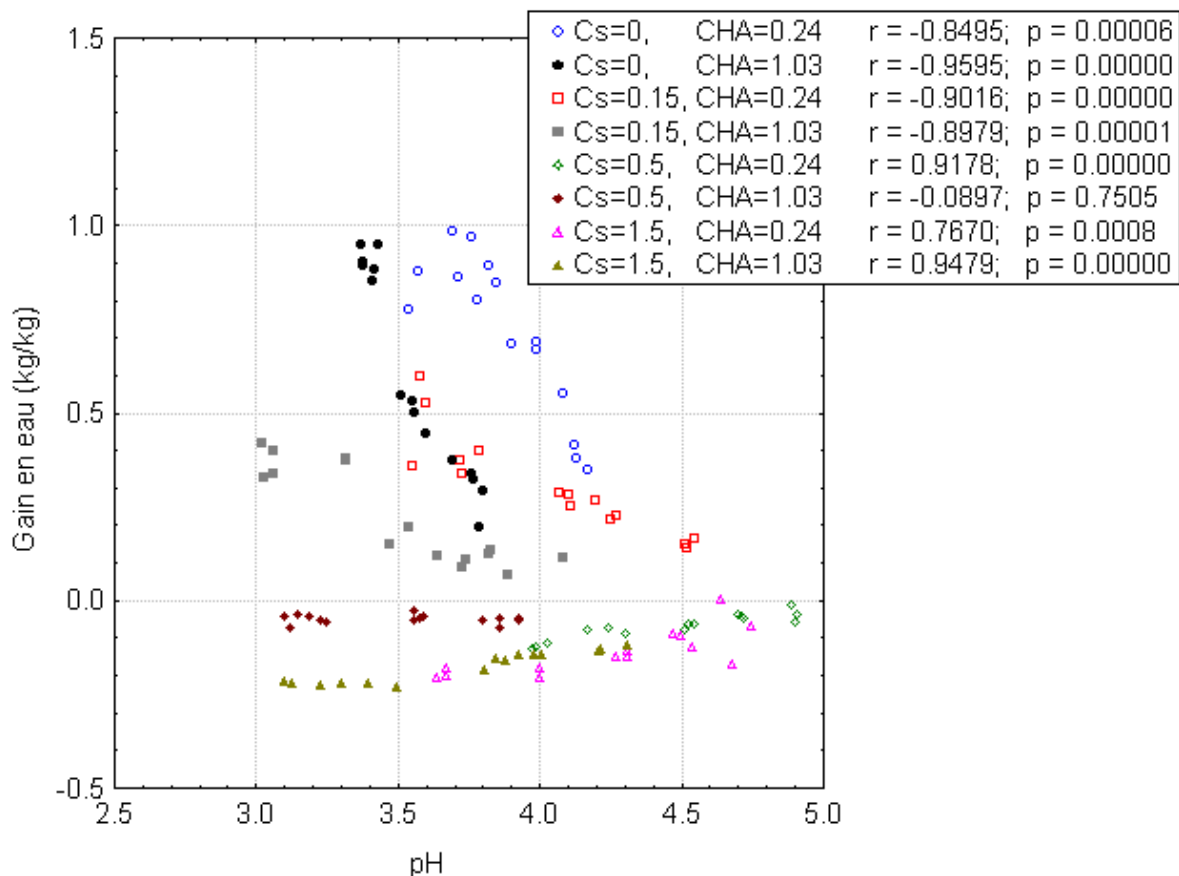


Figure 17 : Gain en eau de cubes de poitrine de dinde d'1 cm³ en fonction du pH atteint au cours de l'immersion en solution eau – sel ($C_s = [0 ; 1,5$ M]) – acide acétique ($C_{HA} = 0,24$ ou 1,03 M). Les points sont issus de durées de trempage de 15, 30, 60, 180 et 360 minutes.

4.3. Des difficultés de prédiction du pH en milieu « ouvert ».

L'article 2 a mis en évidence la possibilité de prédire le pH d'homogénats de viande (expérimentations en milieu « fermé ») acidifiés par de l'acide acétique, à partir des équilibres de dissociation de l'acide et de la connaissance de la capacité de fixation de protons de la viande considérée. Transposée à l'acidification en milieu « ouvert » (marinage de cubes), cette approche a rencontré des limitations importantes dues à l'inadéquation des données de pouvoir tampon établies en milieu fermé. L'erreur de pH réalisée par le calcul croît avec la durée d'immersion, et peut atteindre 1 unité de surestimation par rapport aux valeurs obtenues expérimentalement. Dans une première approche, on a avancé l'argument qu'au cours de l'immersion, la viande perdait une partie de sa capacité à fixer des protons par solubilisation de protéines (protéines sarcoplasmiques et une partie des protéines myofibrillaires) et de substances à pouvoir tampon comme le lactate (perdu à 70% après l'immersion de cubes de viande pendant 6 heures dans de l'eau désionisée) et autres composés non protéiques comme des dipeptides, phosphates, etc... Cela doit être nuancé par le fait que le calcul est basé sur la prise en compte de la perte de capacité de fixation de protons ($[H_b]_{dm}$) de la matière sèche, donc la perte par solubilisation est prise en compte dans le calcul réalisé dans le cas du milieu ouvert.

L'impossibilité de faire une prédiction correcte en milieu ouvert est certainement liée aux différences croissantes qui s'installent avec le temps d'immersion entre les propriétés d'un homogénat de viande fraîche et de la viande formulée par marinage en immersion. Les changements qualitatifs qui se produisent dans la matière sèche sont donc très influents sur l'évolution du pH de la viande en cours de traitement. Ainsi :

- La perte de lactate, faible pondéralement, est très importante en termes de baisse de capacité de fixation de protons à pH acide : 1 mole de lactate représente 90 g tandis qu'1 mole de site de fixation de protons représente environ 700 g de myosine (environ 140 moles pour 100 kg de protéines selon Hamm, 1994). Ainsi, dans le cas rencontré dans nos expérimentations (articles 1, 2 et 3), soit, après 6 heures d'immersion, la perte de lactate avoisine 70% (7 g/kg de viande), et la perte de protéines 20% des protéines initiales (soit 50 g/kg de viande). Ainsi, la perte de capacité de fixation de protons est imputable à hauteur équivalente à chacune de ces deux catégories de constituants.

- La viande conserve une certaine intégrité lors des traitements de marinages, justifiant d'une certaine difficulté d'accès à l'acide de marinage en comparaison avec ce qui se produit à l'état d'homogénat (milieu fermé).

4.4. Des variations de texture au cours du marinage : un effet du temps d'immersion ou un effet du pH ?

Les résultats rapportés dans l'article 3 montrent que les modifications de propriétés mécaniques et de rétention d'eau se font selon une certaine dynamique et présentent des différences notables selon que le marinage est réalisé en milieu binaire (sel-acide) ou ternaire (eau-sel-acide). Par souci de simplification, nous n'avons pas réalisé des cinétiques complètes, mais nous nous sommes limités à quelques durées bien choisies :

- Une première durée très courte (5 min), qui permet (i) d'obtenir un pH dans la viande voisin du pH_i des protéines myofibrillaires (env. 5.0) et (ii) une faible imprégnation.
- Une seconde durée, courte également (20 min), qui devait permettre d'être en-deçà du pH_i pour le traitement binaire, mais non loin du pH_i en cas de présence de sel (du fait de sa « diminution » liée à la présence des Cl^-).
- Une durée très longue (360 min), qui, compte-tenu de la teneur en sel C_s choisie (0,25 M), devait permettre d'obtenir des produits d'un degré d'hydratation proche de celui obtenu pour des temps courts en solutions binaires et ternaires.

Par ailleurs, nous avons choisi les concentrations en sel et acide des solutions d'immersion pour obtenir, pour des temps courts, des produits aux caractéristiques proches de celles attendues habituellement en termes culinaires, et pour des temps longs des produits aux caractéristiques très contrastées d'une part avec les temps courts, et d'autre part entre les deux types de solutions. Nous savons en effet que pour une C_s voisine de 0,3 M, nous ne pouvons pas obtenir d'hydratation importante quelque soit l'acidification.

Nous avons constaté dans ces conditions :

- Que pour des durées courtes, que ce soit en présence ou en absence de sel, on observe un durcissement significatif de la viande par rapport au témoin (mesures sur viande cuite).
- Pour des durées longues, on observe un retour vers une tendreté voisine (traitement ternaire) ou supérieure à celle du témoin non mariné.

Pendant toute la durée des traitements, nous sommes en régime de transfert de matière, aussi bien de la solution vers la viande (sel, acide, eau) que de la viande vers la solution (lactate, eau, protéines, constituants solubles de la viande). En effet, nous ne sommes à l'équilibre des teneurs en sel et acide qu'aux temps les plus longs, mais la solubilisation de substances de la viande pourrait se poursuivre certainement encore si nous poursuivions le traitement.

Ceci se traduit par la mise en œuvre de réactions et de modifications des propriétés par évolution des conditions locales puisque les tissus frais ne seront atteints que progressivement par les phénomènes que nous avons décrits tout au long de ce travail de thèse. Ainsi, les compositions, pH, gonflement ou retraits au marinage, notamment pour les temps courts, sont des valeurs moyennes, qui reflètent la prise en compte globale d'une somme de tissus externes très modifiés et de parties internes intactes. Pour ce qui est des propriétés mécaniques et des pertes à la cuisson, par contre, il en va différemment. La cuisson et les mesures de texture sont faites après attente d'un temps de repos suffisant pour obtenir une certaine homogénéité des cubes en dehors de la solution d'immersion. Ces propriétés peuvent donc être mises en relation avec le pH et les compositions moyennes mesurés.

Par ailleurs, on ne peut exclure que la diminution progressive du pH **augmente l'activité de protéases** lysosomales acides comme certaines cathepsines, qui pourraient contribuer à l'attendrissement de la structure. La solubilisation des protéines et du lactate, par baisse de pouvoir tampon interne, favorise l'abaissement du pH avec ses conséquences connues sur l'accumulation de charges positives sur la rétention d'eau et la texture. Par ailleurs, cette perte de protéines de structure, affecte entre autres la myosine avec des répercussions positives sur l'attendrissement en particulier en absence de sel. Tous ces mécanismes sont très liés aux valeurs de pH et de teneur en sel locales effectivement atteintes. Aussi, le marinage étant réalisé sur des morceaux entiers de viande ou poisson, les facteurs temps et taille des morceaux nécessiteront un contrôle adéquat pour le développement de propriétés fonctionnelles maîtrisées.

4.5. Vers une représentation des processus de transfert de matière en marinage.

Au cours du marinage, on a pu observer un ensemble de modifications des propriétés de la viande sous l'influence des changements globaux de pH, de force ionique et de concentration en espèces chimiques présentes. Des hypothèses ont été formulées dans l'article 1 en matière de mécanismes de modification de volume selon la teneur en sel de la solution d'immersion.

Il a été avancé que des différences de pressions totales entre les milieux interne (viande) et externe (solution d'immersion) pourraient expliquer des régimes d'entrée ou de sortie de fluide dans la matrice du fait de sa porosité. Compte-tenu des difficultés à mesurer des différences de pression dans notre système expérimental, et en prenant en compte la complexité du matériau et sa réactivité, nous ne pouvons exclure que d'autres phénomènes entrent en jeu pour expliquer les changements observés. Offer *et al.* (1989) ont proposé un schéma dans lequel, après dépolymérisation de la myosine, les répulsions entre fibres provoquent une expansion liée à l'entropie du système (cf. §1.2.3.2). Cette explication ainsi que les forces d'interactions électrostatiques entre chaînes protéiques justifient l'idée de mouvements de fluide par gradients de pression.

D'autres phénomènes liés d'une façon générale aux répercussions de la dénaturation des protéines pourraient compléter ces hypothèses. Les modifications de pH et de force ionique provoquent l'exposition de zones internes des protéines initialement masquées. Ces zones peuvent être hydrophobes, ou au contraire avoir beaucoup d'affinité pour l'eau. Les chaînes latérales des protéines comportent de nombreuses zones polaires dans lesquelles des liaisons fortes avec l'eau pourraient s'établir selon les conditions locales. Cette fixation d'eau, en provoquant une baisse locale d' a_w , pourrait alors entraîner une migration de molécules d'eau indépendamment de gradients de pression.

Dans l'article 1, nous avons appuyé la proposition de mécanismes de migration de l'eau et des solutés sur l'observation des allures et intensité de leurs densités de flux et vitesses de migration. Le fait que pour de faibles teneurs en sel, la vitesse de migration du sel et de l'acide puisse représenter le double ou le triple de celle de l'eau nous a permis d'avancer l'existence de deux mécanismes distincts et concomitants de transports. Une migration d'acide et de sel, par diffusion moléculaire, provoque la dénaturation des protéines musculaires. Selon le pH atteint, cette dénaturation se traduit par une déformation de la matrice par l'exercice de contraintes mécaniques internes. Cela nous a permis de postuler que la migration de fluide dans la viande pouvait résulter de différences de pressions entre la viande et la solution d'immersion.

Deux situations extrêmes peuvent alors être rencontrées :

- Dans le cas d'une expansion de la matrice (pH bas et faible teneur en sel), la pression interne diminue, ce qui peut entraîner une infiltration massive de marinade,
- Dans le cas d'une rétraction de la matrice liée à la présence de sel à une concentration suffisante pour masquer les excès de charges positives liées à l'acidification, on assiste alors à une expulsion de fluide.

La diffusion moléculaire du sel et de l'acide peut se superposer à ce mouvement de fluide, ou se réaliser à contresens.

Ainsi, la modélisation des transferts de matière, à la lumière des mécanismes identifiés, est complexe. Elle pourrait consister à identifier des coefficients phénoménologiques de transport en intégrant dans le modèle :

- La diffusion moléculaire et la convection de solution.
- La déformation selon les conditions locales de pH et de teneur en sel.
- Une détermination du pH local qui intègre la loi de diffusion du lactate, et les changements de capacité de fixation de protons liés à la solubilisation des protéines.
- Une information sur les modifications des propriétés mécaniques des fibres musculaires selon leur état, leur pH, leur teneur en sel, etc...

CONCLUSIONS GÉNÉRALES ET PERSPECTIVES

L'étude bibliographique a révélé l'existence d'une abondance de connaissances scientifiques relatives aux déterminants des qualités culinaires et technologique des produits carnés, texture et propriétés reliées à la rétention d'eau en particulier. Les technologies de saurissage et marinage sont mondialement utilisées depuis des temps anciens pour conserver ou valoriser les produits carnés, en répondant avec le temps à des attentes des consommateurs d'offres d'une alimentation de plus en plus diversifiée et sûre.

Ainsi, un effort important de recherche a été consacré depuis plusieurs décennies à la compréhension et à la description des modifications de propriétés des tissus musculaires soumis à des traitements acides ou à des conditions de forces ioniques variées.

Le présent travail expérimental s'est appuyé sur le constat que ces études ont très peu concerné l'observation cinétique et les mécanismes mis en jeu lors des traitements de marinage acide de pièces de viande par immersion en présence de sel. Pourtant, cette voie de transformation est souvent présente dans les procédés traditionnels, et certainement porteuse d'un potentiel de développement en pays du sud.

L'approche expérimentale appliquée dans ce travail s'est construite à partir de trois objectifs : (i) identifier les mécanismes de transferts de matière lors du marinage acide de la viande, (ii) améliorer la compréhension de l'évolution du pH en fonction des transferts d'acide au cours de l'immersion, et (iii) évaluer l'influence du marinage sur les propriétés fonctionnelles de la viande traitée en relation avec les changements de composition et les variables opératoires.

Une première partie a été consacrée au suivi des transferts de matière et à l'évolution des déformations de la matrice lors de l'immersion en solutions concentrées en NaCl et acide acétique (0 à 1,5 M) pour des durées pouvant atteindre 6 heures. Dans ce domaine expérimental, il a été montré qu'en marinade acide, une concentration en NaCl voisine de 0,3 M apparaît comme un seuil au-dessus duquel on observe systématiquement un régime de déshydratation. En-deçà de ce seuil, selon la teneur en acide et en sel, on peut observer un gonflement d'autant plus important que la teneur en acide est élevée. Dans un domaine intermédiaire de teneur en sel, en présence d'acide, il a été montré qu'un régime d'expansion de la matrice peut succéder à une première phase de réduction du volume de la matrice. L'analyse des flux et vitesses de transport d'eau et de solutés tirées d'études cinétique a permis de proposer un schéma mécanistique qui permet de lier le régime d'hydratation au degré de gonflement de la matrice, en lien avec la teneur en sel de la solution d'immersion.

Ainsi, dès le début de l'immersion, on a pu observer des vitesses de migration des solutés bien supérieures à celles de l'eau (pour des solutions de teneurs en sel inférieures à $0,5 \text{ mol kg}^{-1}$ des vitesses respectives de migration de $5 \cdot 10^{-7}$, $2 \cdot 10^{-6}$ et $3 \cdot 10^{-6} \text{ m s}^{-1}$ pour l'eau, l'acide et le sel) n'ont pu être expliquées que par la superposition de phénomènes de diffusion et de filtration liées à la déformation de la matrice protéique. En présence de teneurs en sel plus importantes, la rétraction de la matrice sous l'effet vraisemblablement de la chute des forces des répulsions protéines-protéines s'est traduite par une expulsion de fluide interne. Le pH et la teneur en sel ont donc au cours du temps d'immersion un rôle majeur sur la détermination des propriétés de la viande traitée.

Pour avoir un contrôle sur le pH de la viande soumise au marinage, il faut appréhender les propriétés de fixation ioniques de la matrice protéique et des substances qui lui sont associées. On a pu mettre en évidence des différences de pouvoir tampon entre homogénats de muscles de différentes natures dans la zone de pH du marinage acide en relation avec la capacité de la matrice à fixer des protons et la teneur en lactates. La prise en compte de la réactivité de la matrice en milieu acide et des équilibres de dissociation de l'acide de marinage permet de prédire avec une faible erreur (0,1 unité) le pH d'homogénats de tissus musculaires acidifiés par un acide faible de marinage comme l'acide acétique. Lors du marinage de pièces de viande, les principes de calcul établis à partir des équilibres des espèces en solution ne permettent plus de réaliser une prédiction de pH satisfaisante, à tel point que le pH observé peut atteindre 1 unité de moins que le pH obtenu par calcul, pour les temps de traitement par immersion les plus longs étudiés (6 heures). La difficulté de prédiction de pH après immersion a pu être reliée à la fuite de composés à pouvoir tampon, principalement lactate et protéines. Par ailleurs, le comptage des sites de la matrice chargés positivement, en fort excès en milieu acide, a pu être mis en relation avec la quantité d'ion chlorure apportés par le sel et provoquant le blocage du régime de rétention d'eau, constaté au-delà d'une teneur en NaCl de 0,3 M. Bénéficiant de cette base de connaissance sur les transferts de matière et la réactivité de la matrice selon les conditions du milieu, une étude complémentaire a été consacrée à l'observation des propriétés mécaniques et de rétention d'eau de la viande soumise à un marinage doux en marinade eau-sel-acide durant 6 heures. Pour des durées de traitement courtes, un durcissement a été observé quelque soit la nature de la solution d'immersion (eau et sel dans la gamme de 0 à 0,25 M) renforcé par la présence de sel, lié au pH et corrélé à une augmentation des pertes à la cuisson par rapport à un témoin non mariné. Pour des durées plus longues, la dénaturation des protéines sous l'effet de l'augmentation de la force ionique et de la baisse de pH s'est traduite par une réduction des pertes à la cuisson et un attendrissement

relatif de la viande cuite. Cet effet est plus marqué dans le cas d'un traitement en absence de sel, et semble affecter plus particulièrement les tissus conjonctifs. L'explication pourrait être dans les rôles antagonistes du sel et de l'acide dans leurs effets sur les interactions eau-protéines et protéines-protéines et dans la solubilisation importante de protéines en absence de sel. Enfin, les propriétés de rétention d'eau sont nettement à l'avantage de traitements en absence de sel. Cela se traduit par des bilans matière globaux (marinage + cuisson) très intéressants en traitement binaire eau-acide.

Dans des études complémentaires, il serait intéressant d'appréhender les modifications structurales des tissus résultant des interactions sel-acide, et ceci à l'échelle microscopique, avant et après cuisson. Cela permettrait d'évaluer la validité des mécanismes proposés, notamment pour ce qui est des participations respectives des structures myofibrillaires et conjonctives aux propriétés mécaniques et de rétention d'eau.

La part des mécanismes enzymatiques dans l'attendrissement selon le temps de traitement et les pH atteints pourrait également être valablement étudiée en vue de la proposition de conditions opératoires servant au mieux les objectifs technologiques ou culinaires des opérateurs de transformation.

Enfin, la modélisation des transferts de matière et modifications des caractéristiques de la matrice avec pour objectif le pilotage de la qualité des produits marinés est un objectif à poursuivre. Il nécessite toutefois la prise en compte de paramètres complexes liés au caractère multifactoriel de la dénaturation des protéines.

Dans une perspective d'application technologique du procédé de marinage, on devrait prendre en considération également l'accumulation de composés à pouvoir tampon dans la marinade pour son impact sur la constance de la qualité de lots successifs de produits traités dans le cas de réutilisation de la marinade, particulièrement dans le cas de forts ratio viande/marinade.

RÉFÉRENCES

- Aktas, N. (2003). The effects of pH, NaCl and CaCl₂ on thermal denaturation characteristics of intramuscular connective tissue. *Thermochimica Acta*, 407, 105-112.
- Aktas, N., Aksu, M., & Kaya, M. (2003a). The effect of organic acid marination on tenderness cooking loss and bound water content of beef. *Journal of Muscle Foods*, 14(3), 181-194.
- Aktas, N., & Kaya, M. (2001). The influence of marinating with weak organic acids and salts on the intramuscular connective tissue and sensory properties of beef. *European Food Research and Technology*, 213(3), 88-94.
- Aktas, N., Kaya, M., & Aksu, M. (2003b). The influence of marination with different salt concentrations on the tenderness, water holding capacity and bound water content of beef. *Turk J Vet Anim Sci*, 27, 1207-1211.
- Aliño, M., Grau, R., Fernández-Sánchez, A., Arnold, A., & Barat, J. M. (2010). Influence of brine concentration on swelling pressure of pork meat throughout salting. *Meat Science*, 86(3), 600-606.
- Arganosa, G. C., & Marriot, N. G. (1989). Organic acids as tenderizers of collagen in restructured beef. *Journal-of-Food-Science*, 54(5), 1173-1176.
- Bendall, J. R. (1962). Proceedings of the first international congress of food science and technology. In J. M. Leitch (Ed.), *Some aspects of the denaturation of proteins of meat* (pp. 23-30). Gordon and Breach. New York.
- Bendall, J. R., & Wismer-Pedersen, J. (1962). Some properties of the fibrillar proteins of normal and watery pork muscle. *J. Food Sci.*, 27, 144-159.
- Berge, P., Erthbjerg, P., Larsen, L. M., Astruc, T., Vignon, X., & Moller, A. J. (2001). Tenderization of beef by lactic acid injected at different times post mortem. *Meat-Science*, 57(4), 347-357.
- Bertram, H. C., Kristensen, M., & Andersen, H. J. (2004). Functionality of myofibrillar proteins as affected by pH, ionic strength and heat treatment - a low-field NMR study. *Meat Science*, 68(2), 249-256.
- Bjorkroth, J. (2005). Microbiological ecology of marinated meat products. *Meat Science 50th International Congress of Meat Science and Technology, (ICoMST), 8-13 August 2004, Helsinki, Finland*, 70(3), 477-480.
- Bonnet, M., Ouali, A., & Kopp, J. (1992). Beef muscle osmotic pressure as assessed by differential scanning calorimetry (DSC). *International Journal of Food Science & Technology*, 27(4), 399-408.
- Bourne, M. C. (1978). Texture Profile Analysis. *Food Technology*, 7(32), 62-66.
- Bouton, P. E., & Harris, P. V. (1972). A comparison of objective methods used to assess tenderness *Journal of Food Science*, 37, 218-221.
- Burke, R. M., & Monahan, F. J. (2003). The tenderisation of shin beef using a citrus juice marinade. *Meat Science*, 63(2), 161-168.
- Caine, W. R., Aalhus, J. L., Best, D. R., Dugan, M. E. R., & Jeremiah, L. E. (2003). Relationship of texture profile analysis and Warner-Bratzler shear force with sensory characteristics of beef rib steaks. *Meat Science*, 64(4), 333-339.
- Cann, J. R., & Coombs, R. O. (1971). Interaction of acetic acid with poly-L-glutamic acid and serum albumin. *Biochemistry*, 10(20), 3707-3712.
- Chang, H.-J., Wang, Q., Zhou, G.-H., Xu, X.-L., & Li, C.-B. (2010). Influence of weak organic acids and sodium chloride marination on characteristics of connective tissue collagen and textural properties of beef semitendinosus muscle. *Journal of Texture Studies*, 41(3), 279-301.

- Connell, J. J., & Howgate, P. F. (1959). Studies on the proteins of fish skeletal muscle. 6. Amino-acid composition of cod fibrillar proteins. *Biochem. J.*, 71, 83-86.
- Connell, J. J., & Howgate, P. F. (1964). The Hydrogen Ion Titration Curves of Native, Heat-Coagulated and Frozen-Stored Myofibrils of Cod and Beef. *Journal of Food Science*, 29(6), 717-722.
- Culler, R. D., Jr, F. C. P., Smith, G. C., & Cross, H. R. (1978). Relationship of myofibril fragmentation index to certain chemical, physical and sensory characteristics of bovine Longissimus muscle. *Journal of Food Science*, 43(4), 1177-1180.
- Daudin, J. D., & Lebert, A. (2008). Analyse des transferts de matière lors du marinage acide de la viande de boeuf et estimation de la diffusivité des ions H⁺. *12^{ème} JSMTV*, Tours, 71-72.
- Desmond, E. M., & Troy, D. J. (2001). Effect of Lactic and Citric Acid on Low-value Beef used for Emulsion-type Meat Products. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 34(6), 374-379.
- Doehlert, D. H. (1970). Uniform shell design. *Journal of the Royal Statistical Society. Series C (Applied Statistics)*, 19(3), 231-239.
- Dransfield, E. (1977). Intramuscular composition and texture of beef muscles. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 28(9), 833-842.
- Ergezer, H., & Gokze, R. (2011). Comparison of marinating with two different types of marinade on some quality and sensory characteristics of Turkey breast meat. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10(1), 60-67.
- Ertbjerg, P., Mielche, M. M., Larsen, L. M., & Moller, A. J. (1999). Relationship between proteolytic changes and tenderness in prerigor lactic acid marinated beef. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79, 970-978.
- Fang, S. H., Nishimura, T., & Takahashi, K. (1999). Relationship between development of intramuscular connective tissue and toughness of pork during growth of pigs. *Journal of Animal Science*, 77(1), 120-130.
- Fennema, O. (1990). Comparative water holding properties of various muscle foods. *Journal of Muscle Foods*, 1, 363-381.
- Froning, G. W., & Sackett, B. (1985). Effect of salt and phosphates during tumbling of turkey breast muscle on meat characteristics. *Poultry Science*, 64, 1328-1333.
- Gault, N. F. S. (1984). The influence of acetic acid concentration on the efficiency of marinating as a process for tenderising beef. *30th European Meeting of Meat Research Workers*, Bristol, 184-185.
- Gault, N. F. S. (1985). The relationship between water-holding capacity and cooked meat tenderness in some beef muscles as influenced by acidic conditions below the ultimate pH. *Meat Science*, 15(1), 15-30.
- Goli, T., Abi Nakhoul, P., Zakhia-Rozis, N., Trystram, G., & Bohuon, P. (2007). Chemical equilibrium of minced turkey meat in organic acid solutions. *Meat Science*, 75(2), 308-314.
- Gondret, F. (1997). *Caractéristiques des fibres musculaires et des lipides intramusculaires chez le lapin : effets de l'âge et de l'alimentation*. Thèse de doctorat, INA-PG. 168 p.
- Graiver, N., Pinotti, A., Califano, A., & Zaritzky, N. (2006). Diffusion of sodium chloride in pork tissue. *Journal of Food Engineering*, 77(4), 910-918.
- Greaser, M. L., & Pearson, A. M. (1999). Flesh food and their analogues. In C. Hall (Ed.), *Food texture. Measurement and perception*. (pp. 228-235). Gaithersburg. Maryland, USA. ASPEN.
- Hamm, R. (1986). Functional properties of the myofibrillar system and their measurements. In P. J. Bechtel (Ed.), *Muscle as food* (pp. 135-199). Orlando (USA) Academic Press.

- Hamm, R. (1994). The influence of pH on the protein net charge in the myofibrillar system. *47th Annual Reciprocal Meat Conference*, 47, 5-9.
- Hamm, R., Chichester, C. O., & Mrak, E. M. (1961). Biochemistry Of Meat Hydration. In C. O. Chichester & E. M. Mrak (Eds.), *Advances in Food Research* (Vol. 10, pp. 355-463). Orlando (USA) Academic Press.
- Hamm, R., & Deatherage, F. E. (1960). Changes in hydration, solubility and charges of muscle proteins during heating of meat. *Journal of Food Science*, 25(5), 587-610.
- Han, J., Morton, J. D., Bekhit, A. E. D., & Sedcole, J. R. (2009). Pre-rigor infusion with kiwifruit juice improves lamb tenderness. *Meat Science*, 82(3), 324-330.
- Herrera-Mendez, C. H., Becilab, S., Boudjellal, A., & Ouali, A. (2006). Meat ageing: Reconsideration of the current concept *Trends in Food Science & Technology*, 17(8), 394-405.
- Hertog-Meischke, M. J. A. D., Laack, R. J. L. M. v., & Smulders, F. J. M. (1997). The water-holding capacity of fresh meat. *The Veterinary Quarterly*, 19, 175-181.
- Hoffman, L. C., Muller, M., & Vermaak, A. (2008). Sensory and preference testing of selected beef muscles infused with a phosphate and lactate blend. *Meat Science*, 80(4), 1055-1060.
- Honikel, K. O. (1998). Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. *Meat Science*, 49(4), 447-457.
- Honikel, K. O. (2004). Chemical and physical characteristics of meat. pH Measurement. In *Encyclopedia of Meat Sciences* (pp. 238-242). Oxford Elsevier.
- Hopkins, D. L., Huff-Lonergan, E., & Werner Klint, J. (2004). Tenderizing mechanisms. Chemical and Enzymatic. In *Encyclopedia of Meat Sciences* (pp. 1363-1369). Oxford Elsevier.
- Horgan, D. J., Kurth, L. B., & Kuypers, R. (1991). PH Effect on Thermal Transition Temperature of Collagen. *Journal of Food Science*, 56(5), 1203-1204.
- Howat, P. M., Sievert, L. M., Myers, P. J., Koonce, K. L., & Bidner, T. D. (1983). Effect of Marination upon Mineral Content and Tenderness of Beef. *Journal of Food Science*, 48(2), 662-663.
- Hwang, I. H., Lin, C. W., & Chou, R. G. R. (2000). Effect of lactic or acetic acid on degradation of myofibrillar proteins in post-mortem goose (*Anser anser*) breast muscle. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(2), 231-236.
- Kauffman, R. G., Eikelenboom, G., van der Wal, P. G., Engel, B., & Zaar, M. (1986). A comparison of methods to estimate water-holding capacity in post-rigor porcine muscle. *Meat Science*, 18(4), 307-322.
- Ke, S., Huang, Y., Decker, E. A., & Hultin, H. O. (2009). Impact of citric acid on the tenderness, microstructure and oxidative stability of beef muscle. *Meat Science*, 82(1), 113-118.
- Kemp, C. M., Sensky, P. L., Bardsley, R. G., Buttery, P. J., & Parr, T. (2010). Tenderness - An enzymatic view. *Meat Science*, 84(2 8), 248-256.
- Kijowski, J. (1993). Thermal transition temperature of connective tissues from marinated spent hen drumsticks. *International Journal of Food Science and Technology*, 28(6), 587-594.
- Kijowski, J. (2001). Chapter 10. Muscle proteins. In Z. E. Sikorski (Ed.), *Chemical & functional properties of food proteins* (pp. 233-269). Lancaster Basel, USA Technomic Publishing Co.
- Kijowski, J., & Mast, M. G. (1993). Tenderization of spent fowl drumsticks by marination in weak organic solutions. *International Journal of Food Science & Technology*, 28, 337-342.

- Kivikari, R. (1996). *Buffering capacity of meat. PhD thesis.* Academic Dissertation, University Press, Helsinki. 131
- Knight, P., & Parsons, N. (1988). Action of NaCl and polyphosphates in meat processing: Responses of myofibrils to concentrated salt solutions. *Meat Science*, 24(4), 275-300.
- Kuypers, R., & Kurth, L. B. (1995). Collagen's contribution to meat texture. *Proceedings of Meat' 95, The Australian Meat Industry Research Conference*, Gold Coast (Australia), 11B, 11-18.
- Kyla-Puhju, M., Ruusunen, M., Kivikari, R., & Puolanne, E. (2004). The buffering capacity of porcine muscles. *Meat Science*, 67(4), 587-593.
- Lebert, A., & Daudin, J. D. (2009). Measurement and prediction of pH and aw of meat products. *Conference proceedings of the 55th ICOMST*, Copenhagen, Denmark, 829-833.
- Lee, S., Stevenson-Barry, J. M., Kauffman, R. G., & Kim, B. C. (2000). Effect of ion fluid injection on beef tenderness in association with calpain activity. *Meat-Science*, 56(3), 301-310.
- Lepetit, J. (2008). Collagen contribution to meat toughness: Theoretical aspects. *Meat Science*, 80(4), 960-967.
- Lepetit, J., & Culioli, J. (1994). Mechanical properties of meat. *Meat Science*, 36(1-2), 203-237.
- Lepetit, J., Grajales, A., & Favier, R. (2000). Modelling the effect of sarcomere length on collagen thermal shortening in cooked meat: consequence on meat toughness. *Meat Science*, 54(3), 239-250.
- Lewis, G. J., & Purslow, P. P. (1991). The effect of marination and cooking on the mechanical properties of intramuscular connective tissue. *Journal-of-Muscle-Foods*, 2(3), 177-195.
- Li, J., Tan, J., & Shatadal, P. (2001). Classification of tough and tender beef by image texture analysis. *Meat Science*, 57(4), 341-346.
- Lin, Y.-C., Chen, W. T., & Chou, R. G. R. (2000). Postmortem Changes in Mule Duck Muscle Marinated in Red Wine. *Journal of Food Science*, 65(5), 906-908.
- Listrat, A., & Lepetit, J. (2009). Swelling and elastic modulus of collagen fibres: Effect of pH and thermal treatment. *55th ICOMST 'Meat - Muscle, Manufacturing and Meals'*, Copenhagen,
- May, B. K., & Perré, P. (2002). The importance of considering exchange surface area reduction to exhibit a constant drying flux period in foodstuffs. *Journal of Food Engineering*, 54(4), 271-282.
- McGee, M. R., Henry, K. L., Brooks, J. C., Ray, F. K., & Morgan, J. B. (2003). Injection of sodium chloride, sodium tripolyphosphate, and sodium lactate improves Warner-Bratzler shear and sensory characteristics of pre-cooked inside round roasts. *Meat Science*, 64(3), 273-277.
- Medynski, A., Pospiech, E., & Kniat, R. (2000). Effect of various concentrations of lactic acid and sodium chloride on selected physico-chemical meat traits. *Meat-Science*, 55(3), 285-290.
- Meullenet, J. F., Lyon, B. G., Carpenter, J. A., & Lyon, C. E. (1998). Relationship between sensory and instrumental texture profile attributes. *Journal of Sensory Studies*, 13(1), 77-93.
- Modi, V. K., Narasimha-Rao, D., & Mahendrakar, N. S. (2001). Improvement of textural quality of layer chicken muscles by calcium chloride and lactic acid. *Journal-of-Food-Science-and-Technology,-India*, 38(6), 561-564.

- Mohamed-Ali, L. H., & Heath, J. L. (1991). Effect of muscle fiber orientation on pectoralis superficialis muscle expansion in NaCl solutions. *J. Food Process. Preserv.*, 15, 303-314.
- Niinivaara, F. P., & Pohja, M. S. (1954). Zur theorie der wasser-bindung des fleisches. *Fleischwirtschaft*, (6), 192-196.
- O'Halloran, G. R., Troy, D. J., & Buckley, D. J. (1997). The relationship between early post-mortem pH and the tenderisation of beef muscles. *Meat Science*, 45(2), 239-251.
- Offer, G., & Cousins, T. (1992). The mechanism of drip production: Formation of two compartments of extracellular space in muscle *Post mortem*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 58(1), 107-116.
- Offer, G., & Knight, P. (1988). The structural basis of water-holding in meat part 1: General principles and water uptake in meat processing. In R. Lawrie (Ed.), *Developments in meat science* (Vol. Volume 4, pp. 63-171.). London Elsevier Applied Science.
- Offer, G., Knight, P., Jeacocke, R., Almond, R., Cousins, T., Elsey, J., Parsons, N., Sharp, A., Starr, R., & Purslov, P. (1989). The structural basis of water holding in meat. Appearance and Toughness of Meat and Meat Products. *Food Microstructure*, 4(8), 151-170.
- Offer, G., & Trinick, J. (1983). On the mechanism of water holding in meat: The swelling and shrinking of myofibrils. *Meat Science*, 8(4), 245-281.
- Olsson, U., Hertzman, C., & Tornberg, E. (1994). The influence of low temperature, type of muscle and electrical stimulation on the course of rigor mortis, ageing and tenderness of beef muscles. *Meat Science*, 37(1), 115-131.
- Önenç, A., Serdaroğlu, M., & Abdramimov, K. (2004). Effect of various additives to marinating baths on some properties of cattle meat. *European Food Research and Technology*, 218(2), 114-117.
- Oreskovich, D. C., Bechtel, P. J., McKeith, F. K., Novakofski, J., & Basgall, E. J. (1992). Marinade pH Affects Textural Properties of Beef. *Journal of Food Science*, 57(2), 305-311.
- Pösö, A. R., & Puolanne, E. (2005). Carbohydrate metabolism in meat animals. *Meat Science*, 70(3), 423-434.
- Puolanne, E., & Kivikari, R. (2000). Determination of the buffering capacity of postrigor meat. *Meat Science*, 56(1), 7-13.
- Purchas, R. W. (2004). Tenderness measurement. In W. K. Jensen (Ed.), *Encyclopedia of Meat Sciences* (pp. 1370-1377). Oxford (UK) Elsevier.
- Purslow, P. P. (2005). Intramuscular connective tissue and its role in meat quality. *Meat Science*, 70(3), 435-447.
- Putnam, F. W. (1953). Protein denaturation. In H. Neurath (Ed.), *The proteins : chemical biological activity and methods* (pp. 807-892).
- Rao, M. V., & Gault, N. F. S. (1989). The influence of fibre-type composition and associated biochemical characteristics on the acid buffering capacities of several beef muscles. *Meat Science*, 26(1), 5-18.
- Rao, M. V., & Gault, N. F. S. (1990). Acetic acid marinading - the rheological characteristics of some raw and cooked beef muscles which contribute to changes in meat tenderness. *Journal of Texture Studies*, 21(4), 455-477.
- Rao, M. V., Gault, N. F. S., & Kennedy, S. (1989a). Changes in the ultrastructure of beef muscle as influenced by acidic conditions below the ultimate pH. *Food Microstructure*, 8, 115-124.
- Rao, M. V., Gault, N. F. S., & Kennedy, S. (1989b). Variations in water-holding capacity due to changes in the fibre diameter, sarcomere length and connective tissue morphology

- of some beef muscles under acidic conditions below the ultimate pH. *Meat Science*, 26(1), 19-37.
- Richardson, R. I., & Jones, J. M. (1987). The effects of salt concentration and pH upon water-binding, waterholding and protein extractibility of turkey meat. *International Journal of Food Science and Technology*, 22, 683-692.
- Risvik, E. (1994). Sensory properties and preferences. *Meat Science*, 36(1-2), 67-77.
- Robson, R. M., Huiatt, T. W., Bellin, R. M., Omary, M. B., & Pierre, A. C. (2004). Muscle Intermediate Filament Proteins. In *Methods in Cell Biology* (Vol. Volume 78, pp. 519-553) Academic Press.
- Rodger, G., Hastings, R., Cryne, C., & Bailey, J. (1984). Diffusion properties of salt and acetic acid into herring and their subsequent effect on the muscle tissue *Journal of Food Science*, 49, 714-720.
- Saunders, A. B. (1994). The effect of acidification on myofibrillar proteins. *Meat Science*, 37(2), 271-280.
- Schmidt, F. C., Carciofi, B. A. M., & Laurindo, J. B. (2008). Salting operational diagrams for chicken breast cuts: Hydration-dehydration. *Journal of Food Engineering*, 88(1), 36-44.
- Sharedeh, D., Gatellier, P., Astruc, T., Peyrin, F., & Daudin., J. D. (2010). Evolution du tissu musculaire de bovin au cours d'un marinage acide. *13ème JSMTV*, Clermont-Ferrand, 103-104.
- Smith, D. M. (2001). Chapter 11 : Functional properties of muscle proteins in processed poultry products. In A. R. Sams (Ed.), *Poultry Meat Processing* (1st ed., pp. 181-194). Boca Raton, FL, USA CRC Press Taylor & Francis Group.
- Smith, D. P., & Acton, J. C. (2001). Chapter 15 : Marination, Cooking, and Curing of Poultry Products. In A. R. Sams (Ed.), *Poultry Meat Processing* (1st ed., pp. 257-280). Boca Raton, FL, USA CRC Press Taylor & Francis Group.
- Svensson, B., & Tornberg, E. (1998). Prediction of acid induced pH decrease in meat. *Conference proceedings of the 44th ICOMST*, Barcelona, Spain, 506-507.
- Szczesniak, A. S. (1963). Objective measurements of food texture. *Journal of Food Science*, 28(4), 410-420.
- Tanford, C. (1962). The interpretation of hydrogen ion titration curve proteins. In *Advances in protein chemistry* (Vol. 17, pp. 69-165) Academic Press.
- Thomas, A. R., Gondoza, H., Hoffman, L. C., Oosthuizen, V., & Naude, R. J. (2004). The roles of the proteasome, and cathepsins B, L, H and D, in ostrich meat tenderisation. *Meat Science*, 67(1), 113-120.
- Tornberg, E. (1996). Biophysical aspects of meat tenderness. Meat for the Consumer 42nd International Congress of MEAT Science and Technology. *Meat Science*, 43(Supplement 1), 175-191.
- Touraille, C., Monin, G., & Legault, C. (1989). Eating quality of meat from European Å—Chinese crossbred pigs. *Meat Science*, 25(3), 177-186.
- Trout, G. R. (1988). Techniques for measuring water-binding capacity in muscle foods--A review of methodology. *Meat Science*, 23(4), 235-252.
- Van Oeckel, M. J., Warnants, N., & Boucqué, C. V. (1999). Comparison of different methods for measuring water holding capacity and juiciness of pork versus on-line screening methods. *Meat Science*, 51(4), 313-320.
- Varnam, A. H., & Sutherland, J. P. (1995). 1-Introduction. 2-Conversion of muscle into meat. In *Meat and meat products. Technology, chemistry and microbiology* (pp. 1-120). London, UK Chapman & Hall.
- Wenham, L. M., & Locker, R. H. (1976). The effect of marinading on beef. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 27(12), 1079-1084.

- Whiting, R. C., & Strange, E. D. (1990). Effects of Lactic Acid on Epimysial Connective Tissues of Muscles Used for Restructured Beef Steaks. *Journal of Food Science*, 55(3), 859-860.
- Wilding, P., Hedges, N., & Lillford, P. J. (1986). Salt-induced swelling of meat: The effect of storage time, pH, ion-type and concentration. *Meat Science*, 18(1), 55-75.
- Winger, R. J., & Pope, C. G. (1981). Osmotic properties of post-rigor beef muscle. *Meat Science*, 5(5), 355-369.
- Wood, J. D., Nute, G. R., Fursey, G. A. J., & Cuthbertson, A. (1995). The effect of cooking conditions on the eating quality of pork. *Meat Science*, 40(2), 127-135.
- Xiong, Y. L. (2005). Role of myofibrillar proteins in water-binding in brine-enhanced meats. *Food Research International*, 38(3), 281-287.
- Xiong, Y. L., & Werner Klinth, J. (2004). Chemical and physical characteristics of meat. Protein Functionality. In *Encyclopedia of Meat Sciences* (Vol. 1, pp. 218-225). Oxford Elsevier.
- Young, O. A., & Braggins, T. J. (1993). Tenderness of ovine semimembranosus: Is collagen concentration or solubility the critical factor? *Meat Science*, 35(2), 213-222.
- Yusop, S. M., O'Sullivan, M. G., Kerry, J. F., & Kerry, J. P. (2010). Effect of marinating time and low pH on marinade performance and sensory acceptability of poultry meat. *Meat Science*, 85(4), 657-663.
- Yusop, S. M., O'Sullivan, M. G., Kerry, J. F., & Kerry, J. P. (2012). Influence of processing method and holding time on the physical and sensory qualities of cooked marinated chicken breast fillets. *LWT - Food Science and Technology*, (0).
- Zamora, F., Aubry, L., Sayd, T., Lepetit, J., Lebert, A., Sentandreu, M. A., & Ouali, A. (2005). Serine peptidase inhibitors, the best predictor of beef ageing amongst a large set of quantitative variables. *Meat Science*, 71(4), 730-742.

ANNEXES

Tableau 6 : Variations de masse maximales obtenues en marinage sel-eau, acide-eau ou acide-sel-eau.

| NaCl | Acide | Conditions | Variations de masse (kg kg ⁻¹) | Auteurs |
|--------------|-------------------------|--|--|------------------------------------|
| - | 0,25 N (acétique) | Bœuf <i>Long. dorsi</i> , 48h 4°C. Ratio 1/7 (viande/sol). | 2,04 | Rao <i>et al.</i> (1989b) |
| - | 0,17 N (lactique) | Bœuf <i>Long. dorsi</i> , 72h 4°C. Ratio 1/4 (v/sol). | 2 | Aktas, Aksu <i>et al.</i> (2003a) |
| - | 0,08 N (citrique) | idem | 1,7 | Aktas, Aksu <i>et al.</i> (2003a). |
| - | 0,5 à 2N (acétique) | Bœuf <i>Long. lumb.</i> , 48h 4°C. Ratio 1/7 (v/sol). | 2 | Gault (1984) |
| - | 2,5 mM à 3 M (acétique) | idem | 2 | Gault (1985) |
| - | 0,08 M (acétique) | Idem. | 1,08 | Gault (1985) |
| - | 0,1 M (acétique) | Bœuf (plusieurs muscles), 48h 4°C. Ratio 1/7 (v/sol). | 1,65 | Rao & Gault (1990) |
| - | 0,25 M (acétique) | Idem. | 1,17 | Rao & Gault (1990). |
| 1 M | - | Bœuf <i>Long. dorsi</i> , 72h 5°C. Ratio 1/4 (v/sol). | 1,2 | Aktas, Kaya <i>et al.</i> (2003b) |
| 0,3 M | - | Bœuf <i>Long. dorsi</i> , 24h 4°C. Ratio 1/1 (v/sol). | 1,08 | Onenc <i>et al.</i> (2004) |
| 1,7 M | - | Porc, <i>Semimemb.</i> , 6 jours, 5°C. | 1,3 | Alino <i>et al.</i> (2010) |
| 0,85 M | - | Poulet, <i>Pect. superficialis</i> , 12h, 22°C. | 1,5 | Mohamed-Ali et Heath (1991) |
| 0,85 M | - | Poulet, poitrine. 24h, 5°C. Ratio 1/50 (v/sol). | 1,15 | Schmidt <i>et al.</i> (2008) |
| 0,3 ou 0,5 M | 0,05 ou 0,1N (lactique) | Poitrine de dinde. 2h, 2°C. Ratio 1/1. Barattage à pression atm. | 1,2 (résultats nsd entre eux) | Ergezer & Gokse (2011) |
| 0,15 M | 0,25M (acétique) | Bœuf <i>Sternomandibularis</i> , 43h 2°C. | 1,15 | Wenham et Locker (1976) |

Tableau 7 : Effets du pH, du sel et effets combinés sur les propriétés, la structure et la physicochimie de la viande ou de tissus musculaires (récapitulatif bibliographique).

| EFFETS DE L'ACIDE, du PH | Précisions / Auteurs |
|--|---|
| 1- EFFETS SUR LES PROPRIETES FONCTIONNELLES | |
| Baisse T° onset (T ₀) et de dénaturation (T _p) de 10 à 20°C. | Sur IMCT* : (Aktas, 2003; Berge <i>et al.</i> , 2001; Horgan <i>et al.</i> , 1991; Kijowski, 1993) |
| | Acide lactique sur IMCT : (Whiting & Strange, 1990) |
| | Baisse module élasticité entre pH5 et 4 sur IMCT (Listrat & Lepetit, 2009) |
| | Sur bœuf, en-deçà du pH _i (Gault, 1985; Ke <i>et al.</i> , 2009; Lewis & Purslow, 1991) (Chang <i>et al.</i> , 2010) (Oreskovich <i>et al.</i> , 1992) |
| Affaiblissement de la texture. | Sur hareng (Rodger, Hastings, Cryne, & Bailey, 1984) |
| | Sur bœuf collagénique (Arganosa & Marriot, 1989; Berge <i>et al.</i> , 2001) (Aktas <i>et al.</i> , 2003a; Burke & Monahan, 2003; Desmond & Troy, 2001) |
| | Sur pilons de volaille (Kijowski & Mast., 1993) |
| | Sur poulet (poitrine et cuisses) (Modi, Narasimha-Rao, & Mahendrakar, 2001) |
| | Sur bœuf (Aktas <i>et al.</i> , 2003a; Aktas & Kaya, 2001; Burke & Monahan, 2003) |
| | Bœuf collagénique en particulier (Gault, 1985; Ke <i>et al.</i> , 2009) |
| | Dès 0,01N ac. ac. (N. F. S. Gault, 1985; M.V. Rao & Gault, 1990) |
| Variation de masse jusqu'à 1 kg kg ⁻¹ | Boeuf, muscles à dominante blanche (Rao <i>et al.</i> , 1989b) |
| | Sur IMCT (Kijowski, 1993) (Listrat & Lepetit, 2009; Rao <i>et al.</i> , 1989b) |
| | Sur système myofibrillaire en-deçà du pH _i (Hamm, 1986) (Oreskovich <i>et al.</i> , 1992) |
| | Sur bœuf par DSC (Aktas <i>et al.</i> , 2003a) |
| | Sur IMCT (Aktas & Kaya, 2001) |
| Accroissement de la capacité de rétention d'eau | Sur bœuf avec minimum au pH _i , corrélé avec tendreté et gonflement (Hamm <i>et al.</i> , 1961) |
| | Sur poulet (poitrine et cuisses) corrélé avec tendreté et |

| | |
|---|--|
| | gonflement (Modi <i>et al.</i> , 2001) Broyat porc et bœuf (Medynski, Pospiech, & Kniat, 2000) |
| Rétraction muscles à dominante rouge. | Boeuf (Rao <i>et al.</i> , 1989b) |
| Abaissement des pertes à la cuisson. | Sur bœuf (Aktas <i>et al.</i> , 2003a; Burke & Monahan, 2003; Gault, 1985; Ke <i>et al.</i> , 2009; Lewis & Purslow, 1991; Rao <i>et al.</i> , 1989b) Broyat porc et bœuf (Medynski <i>et al.</i> , 2000) |
| Accroissement jutosité. | Sur bœuf collagénique (Desmond & Troy, 2001) |
| Accroissement solubilité du collagène. | Sur bœuf collagénique (Arganosa & Marriot, 1989; Burke & Monahan, 2003; Oreskovich <i>et al.</i> , 1992) |
| 2- EFFETS SUR LA STRUCTURE, PHYSICOCHIMIE ET ENZYMOLOGIE | |
| Destruction endoM et periM | Sur bœuf (Chang <i>et al.</i> , 2010) |
| Rupture des liaisons non covalente collagène. | Tampon citrate acide sur IMCT (Aktas, 2003; Aktas & Kaya, 2001; Kijowski, 1993) |
| Augmentation activité enzymatique lysosomale ou du cytosol | Sur bœuf collagénique et <i>prerigor</i> (Berge <i>et al.</i> , 2001; Ertbjerg <i>et al.</i> , 1999; Han <i>et al.</i> , 2009; Hopkins <i>et al.</i> , 2004; Hwang <i>et al.</i> , 2000) |
| Solubilisation des myofibrilles intense vers pH3 du fait de l'activité enzymatique. | Sur système myofibrillaire (bœuf mouton poulet) (Saunders, 1994) |
| Dégradation Myosine. Myofibrilles amorphes (coagulées). Affaiblissement lignes M, pertes de lignes Z, rupture de bandes I | Sur bœuf collagénique, <i>prerigor</i> (Berge <i>et al.</i> , 2001) Mais persistance disques Z et réversibilité à la remontée du pH, sur bœuf (Ke <i>et al.</i> , 2009) Idem sans réversibilité évoquée (Oreskovich <i>et al.</i> , 1992; Rao <i>et al.</i> , 1989a; Saunders, 1994) |
| Accroissement charge nette positive | Acide acétique sur acide polyglutamique (Cann & Coombs, 1971) Sur système myofibrillaire (Hamm, 1986; Hamm <i>et al.</i> , 1961) |
| Augmentation du pK des groupements réactifs des protéines. | Acide acétique sur acide polyglutamique (Cann & Coombs, 1971) |
| Perte de composés azotés (maxi à pH 3,5 à 4) | (Gault, 1984; Gault, 1985) |
| Diamètre des myofibres diminué (0,17 à 0,25 M) | Sur bœuf (Chang <i>et al.</i> , 2010) |

*IMCT : Intramuscular Connective Tissue.

| EFFETS DU SEL | |
|---|---|
| 1- EFFETS SUR LES PROPRIETES FONCTIONNELLES | |
| Attendrissement | Sur bœuf (Chang <i>et al.</i> , 2010) |
| | Sur hareng (Rodger <i>et al.</i> , 1984) |
| | Sur pilons (Kijowski & Mast., 1993) |
| Raffermit | NaCl 0,3M sur bœuf (Chang <i>et al.</i> , 2010) |
| Rétraction et baisse CRE (0,1 M) | Sur bœuf (Oreskovich <i>et al.</i> , 1992) |
| Baisse CL | Broyat porc et bœuf (Medynski <i>et al.</i> , 2000) Sur poitrine de dinde (Froning & Sackett, 1985) |
| | Sur bœuf (Aktas <i>et al.</i> , 2003a; Aktas & Kaya, 2001; Burke & Monahan, 2003) (Aktas <i>et al.</i> , 2003b) |
| Variation de masse > 1 kg kg ⁻¹ | Sur système myofibrillaire, commence à 0,6M mais maxi vers 1M de NaCl (Hamm, 1986; Knight & Parsons, 1988; Offer & Trinick, 1983) |
| | Sur bœuf (Offer & Trinick, 1983) |
| | Sur porc, augmentation de pression, maxi à 1M (Aliño <i>et al.</i> , 2010) |
| | Perpendiculaire à l'axe des fibres sur poulet (Mohamed-Ali & Heath, 1991) |
| | Sur dinde maxi à 1M NaCl (Schmidt <i>et al.</i> , 2008) |
| Augmentation pertes à la cuisson | Sur bœuf (Oreskovich <i>et al.</i> , 1992) (Aktas <i>et al.</i> , 2003b) |
| Accroissement CRE | Sur IMCT (Aktas & Kaya, 2001) |
| | Sur bœuf (Offer & Trinick, 1983) par libération de volume, et pas uniquement par hydratation protéines. |
| | Sur porc, maxi entre 1 et 1,5M NaCl (Graiver <i>et al.</i> , 2006) |
| | Broyat porc et bœuf (Medynski <i>et al.</i> , 2000) |

| 2- EFFETS SUR LA STRUCTURE, PHYSICOCHIMIE ET ENZYMOLOGIE | |
|---|---|
| Augmentation T_0 et T_p . | Sur IMCT (Aktas, 2003) |
| Renforcement ponts H et hydrophobes. | Sur IMCT (Aktas, 2003) |
| Dépolymérisation myosine. Reste accrochée à actine, mouvement angulaire queue Myosine : ΔP négatif : explique le gonflement. Rupture et gonflement des disques Z | Sur muscle (Offer & Knight, 1988) |
| Perte microstructure, myosine, bandes M, Z et A. et affaiblissement actomyosine et solubilisation myosine. | Sur bœuf (Fennema, 1990; Offer & Trinick, 1983) |
| Cl^- augmente répulsions ES à $pH > pHi$ | Sur bœuf (Hamm <i>et al.</i> , 1961; Offer & Trinick, 1983) |
| Diamètre des myofibres inchangé | NaCl 0,3M sur bœuf (Chang <i>et al.</i> , 2010) |
| Perte de matières azotées | Sur porc, 20-30% dès 0,1M (Graiver <i>et al.</i> , 2006) |
| | |

| EFFETS COMBINES DU SEL ET DE L'ACIDE | |
|--|--|
| 1- EFFETS SUR LES PROPRIETES FONCTIONNELLES | |
| Raffermissement. | Sur bœuf, acide citrique (0,25N) + sel (0,3M) (Chang <i>et al.</i> , 2010) Sur hareng (Rodger <i>et al.</i> , 1984) |
| Augmentation de la tendreté | Sur pilons volaille (Kijowski & Mast., 1993). Sur bœuf, NaCl 0,3M + AC 0,1N, supérieur à sel seul (Önenç <i>et al.</i> , 2004) Sur bœuf, acide lactique (0,17N) et acétique (0,25N) + sel (0,3M). (Chang <i>et al.</i> , 2010) Sur bœuf, NaCl 0,2M + jus de citron (Howat, Sievert, Myers, Koonce, & Bidner, 1983) Sur bœuf, sel 0,15M et acide ac. 0,25N (Wenham & Locker, 1976). |
| Variation de masse > 1 kg kg ⁻¹ | Sur bœuf, sel 0,15M et acide ac. 0,25N. (Wenham & Locker, 1976) Sur bœuf, (+8%) NaCl 0,3M + AC 0,1N, idem sel seul (Önenç <i>et al.</i> , 2004) Sur myofibrilles, au-dessus du pHi (Bertram, Kristensen, & Andersen, 2004) |
| Pas d'effet de la FI au pHi sur l'hydratation des protéines | Sur myofibrilles (Bertram <i>et al.</i> , 2004) |
| Baisse du pHi d'une unité. Cl ⁻ est déshydratant en-deça, et hydratant au-dessus, par augmentation charge nette négative. | Sur bœuf (Hamm <i>et al.</i> , 1961) (Hamm, 1986) |
| Rétraction | Sur bœuf, (-15%) Sel 0,17M et acide ac. 0,003N (Sharedeh <i>et al.</i> , 2010). |
| Pertes à la cuisson augmentées | Sur bœuf, NaCl 0,3M + AC 0,1N, supérieur à sel seul (Önenç <i>et al.</i> , 2004) |
| 2- EFFETS SUR LA STRUCTURE, PHYSICOCHIMIE ET ENZYMOLOGIE | |
| Augmentation T ₀ et T _p .(DSC) | Sur IMCT (Aktas, 2003) |
| Stabilisation collagène par fixation Cl ⁻ sur RNH ₃ ⁺ | Sur IMCT (Aktas, 2003) |
| Renforcement liaisons H si Ts > | Sur IMCT (Aktas, 2003) |
| Extraction protéique favorisée par augmentation pH et Tsel. | Sur dinde (Richardson & Jones, 1987) |
| Augmentation hydrophobie des protéines. | Sur bœuf, sel 0,17M et acide ac. 0,003 N. (Sharedeh <i>et al.</i> , 2010) |
| Forte augmentation volumes EC avec baisse pH. | Sur bœuf, sel 0,17M et acide ac. 0,003 N. (Sharedeh <i>et al.</i> , 2010) |
| Diamètre des myofibres diminué (0,17 à 0,25 M) | Sur bœuf, acide lactique (0,17 N) ou acétique (0,25 N) ou citrique (0,25 N)+ sel (0,3 M). (Chang <i>et al.</i> , 2010) |